

**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

FACULTAD DE MEDICINA

**Departamento de Medicina**



**TESIS DOCTORAL**

**Tratamiento de bacteriemias por enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido: la combinación de  $\beta$ -lactámicos/inhibidores de  $\beta$ -lactamasas como alternativa a los carbapenemes. Proyecto INCREMENT.**

Trabajo realizado para alcanzar el grado de Doctor presentado por

**BELÉN GUTIÉRREZ GUTIÉRREZ**

Sevilla, Febrero de 2015.







## **UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

### **FACULTAD DE MEDICINA Departamento de Medicina**

Dr. D. Jesús Rodríguez Baño, Profesor Titular del Departamento de Medicina de la Universidad de Sevilla y Dr. D. Álvaro Pascual Hernández, Catedrático de Microbiología de la Universidad de Sevilla,

#### **CERTIFICAN:**

Que la tesis para optar al grado de Doctor por la Universidad de Sevilla que lleva por título "Tratamiento de bacteriemias por enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido: la combinación de  $\beta$ -lactámicos/inhibidores de  $\beta$ -talactamasas como alternativa a los carbapenemes. Proyecto INCREMENT." ha sido realizada por Dña. Belén Gutiérrez Gutiérrez bajo nuestra supervisión, considerando que reúne los requisitos necesarios para su presentación.

Y para que conste donde proceda firmamos el presente certificado en Sevilla a 17 de febrero de 2015.

Fdo. Dr. D. Álvaro Pascual Hernández

Dr. D. Jesús Rodríguez Baño



*A Jose, mi marido,*

*y a mis hijas.*



## **AGRADECIMIENTOS**







## Gracias....

A Jesús y Álvaro mis directores de tesis:

A Jesús, por su cercanía, por la ilusión con la que vive su trabajo y transmite a todos los demás, por todo lo que me ha enseñado, y por confiar en mí para este proyecto.

A Álvaro, por tratarme siempre tan bien, por estar cuando lo he necesitado y por su ayuda con la tesis.

A Virginia que hemos trabajado juntas durante estos 4 años en el mismo despacho, por su ayuda en la revisión de los casos de INCREMENT y por lo más valioso, su amistad.

A Alejandro por su disponibilidad y por la creación, y mantenimiento de la base de datos.

A todos los compañeros de Enfermedades Infecciosas que de una manera u otra también me han ayudado. Como a todos les tengo especial cariño los menciono por sus años de experiencia profesional: Miguel Ángel, José Luis, Juan, Ángel, Gertru, Ana, Carmen Caballero, Loles, Charo, Carmen González, Loli, Carmen Lupión, María José, María Dolores, Carmen Machado, Dory, Pilar, Edi, Cecilia, Jesús Sojo, María Núñez, Isabel, María Macías, Zaira, Pedro y Salva.

A los compañeros de Microbiología Clínica, Marina y Elena, que han participado activamente en este proyecto y por resolver con agrado mis dudas de microbiología.

A todos los compañeros de Medicina Interna, y en especial a Javier Arenas, Pepe Mellado, Javier Venero, José María Rubio y Lucía Fernández-Rendón por hacerme disfrutar y aprender cada día que he trabajado con ellos.

A mis pacientes, porque hay palabras que para de verdad entenderlas hay que sentirlas y ellos me han hecho sentir que es la vocación a la medicina.

A REIPI por la financiación de este proyecto y Auxi su coordinadora.

A todos los investigadores de INCREMENT porque sin ellos este proyecto no sería posible (ver en el anexo de esta tesis).

Y a mi familia...,

A Jose y a mis hijas: Belén, María, Teresa y Estrella por ser mi alegría y mi motivación.

A mis padres por su dedicación, cariño y su buen humor. Y a mis hermanos por lo bien que nos lo pasamos juntos y saber que aunque cada uno vivamos en una ciudad siempre estarán conmigo.



# ÍNDICE



<b><u>AGRADECIMIENTOS .....</u></b>	<b><u>1</u></b>
<b><u>ÍNDICE .....</u></b>	<b><u>4</u></b>
<b><u>ABREVIATURAS .....</u></b>	<b><u>14</u></b>
<b><u>INTRODUCCIÓN .....</u></b>	<b><u>18</u></b>
<b><u>1. <math>\beta</math>-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO. ....</u></b>	<b><u>20</u></b>
<b>1.1 RESISTENCIA A <math>\beta</math>-LACTÁMICOS. <math>\beta</math>-LACTAMASAS. CONCEPTO.</b>	
<b>TIPOS. ....</b>	<b>20</b>
1.1.1 Definición y clasificación .....	20
1.1.2 Origen de las $\beta$ -lactamasas .....	23
<b>1.2 <math>\beta</math> -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO. DEFINICIÓN,</b>	
<b>CLASIFICACIÓN .....</b>	<b>23</b>
1.2.1 BLEE tipo TEM.....	24
1.2.2 BLEE tipo SHV.....	25
1.2.3 BLEE tipo CTX-M .....	26
1.2.4 BLEE tipo OXA .....	27
1.2.5 Otros tipos de BLEE .....	27
<b>1.3 EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR Y CLÍNICA GENERAL DE LAS BLEE...28</b>	
1.3.1 Epidemiología molecular y clínica .....	28
1.3.2 Asociación con plásmidos y clones exitosos en E. coli y Klebsiella spp.	
Dispersión de las BLEE .....	31
1.3.3 Incidencia General y por microorganismos.....	33
a) Kp-BLEE .....	33
b) EC-BLEE .....	34



c) Otras enterobacterias productoras de BLEE.....	35
1.3.4 Reservorios .....	35
1.3.5 Factores de riesgo y mecanismos de transmisión en la comunidad.....	36
1.3.6 Factores de riesgo y mecanismos de transmisión en centros sanitarios.....	38

## **2. ASPECTOS GENERALES DE LAS BACTERIEMIAS POR ENTEROBACTERIAS BLEE ..... 39**

### **2.1 CONCEPTO DE BACTERIEMIA, SEPSIS, SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA (SRIS). TIPOS DE BACTERIEMIA. BACTERIEMIA PERSISTENTE, TRANSITORIA Y DE BRECHA .....39**

### **2.2 EPIDEMIOLOGÍA DE LA BACTERIEMIA POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORES DE BLEE: INCIDENCIA/FRECUENCIA EN EL TOTAL DE LAS BACTERIEMIAS. CAMBIOS EN INCIDENCIA/FRECUENCIA GLOBAL...44**

### **2.3 LUGAR DE ADQUISICIÓN Y ORÍGENES. FRECUENCIAS Y ETIOLOGÍAS.....45**

### **2.4 REPERCUSIÓN CLÍNICA DE LA PRODUCCIÓN DE BLEE. MORTALIDAD GLOBAL.....47**

### **2.5 TRATAMIENTO DE SOPORTE Y CONTROL DEL FOCO .....49**

## **3.EL PROBLEMA DEL TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO DE LAS INFECCIONES POR ENTEROBACTERIAS BLEE ..... 51**

### **3.1 ACTIVIDAD IN VITRO DE LOS DISTINTOS ANTIMICROBIANOS .....51**

### **3.2 IMPORTANCIA DEL TRATAMIENTO EMPÍRICO Y DIRIGIDO.....53**

<b>3.3 ESTRATEGIAS DE TRATAMIENTO EMPÍRICO (SEGÚN ADQUISICIÓN, FACTORES DE RIESGO Y EPIDEMIOLOGÍA LOCAL) .....</b>	<b>56</b>
3.3.1 Sepsis de presentación comunitaria (no nosocomial) .....	57
3.3.2 Sepsis nosocomial .....	58
3.3.3 Conclusiones .....	59
<b>3.4 CARBAPENEMES COMO FÁRMACOS DE ELECCIÓN FRENTE A PRODUCTORES DE BLEE. ....</b>	<b>59</b>
<b>3.5 ALTERNATIVAS A LOS CARBAPENEMES.....</b>	<b>60</b>
3.5.1 Combinaciones de BL/BLI .....	60
3.5.2 Fluoroquinolonas: .....	61
3.5.3 Cefalosporinas: .....	62
3.5.4 Otros antimicrobianos .....	64
<b><u>4. ANÁLISIS CRÍTICO DE LOS ESTUDIOS DE LA INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO EN EL PRONÓSTICO DE LAS BACTERIEMIAS EN GENERAL Y POR ENTEROBACTERIA BLEE EN PARTICULAR .....</u></b>	<b><u>67</u></b>
<b>4.1 DISEÑO .....</b>	<b>67</b>
<b>4.2 COVARIABLES A CONSIDERAR: DEMOGRÁFICAS, ENFERMEDADES CRÓNICAS, GRAVEDAD DE LA PATOLOGÍA DE BASE, GRAVEDAD AGUDA, GRAVEDAD DEL SRIS, ORIGEN, ETIOLOGÍA .....</b>	<b>68</b>
<b>4.3 VARIABLES RESULTADO.....</b>	<b>72</b>
<b>4.4 ANÁLISIS: ANÁLISIS MULTIVARIANTE (REGRESIÓN LOGÍSTICA, REGRESIÓN DE COX), ÍNDICE DE PROPENSIÓN, ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD.....</b>	<b>73</b>
4.4.1 ÍNDICE DE PROPENSIÓN .....	76
4.4.2 ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD .....	76

---

---

**JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS..... 78****1. JUSTIFICACIÓN ..... ¡Error! Marcador no definido.****2. HIPÓTESIS .....83****3. OBJETIVOS .....84****MATERIAL Y MÉTODO ..... 85****1 ÁMBITO DE ESTUDIO .....87****2 PERIODO DE ESTUDIO .....89****3 DISEÑO .....90****4 DEFINICIONES Y VARIABLES .....94**

4.1 VARIABLES RESULTADO ..... 95

4.2 VARIABLES DEMOGRÁFICAS ..... 95

4.3 ADQUISICIÓN..... 96

4.4 FACTORES INTRÍNSECOS ..... 97

4.5 VARIABLES CLÍNICAS ..... 99

4.6 TRATAMIENTO DE LA BACTERIEMIA ..... 100

4.7 VARIABLES MICROBIOLÓGICAS..... 101

**5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....102**

5.1 TAMAÑO MUESTRAL..... 102

5.2 ANÁLISIS UNIVARIANTE ..... 102

5.3 ÍNDICE DE PROPENSIÓN ..... 103

5.4 ANÁLISIS MULTIVARIANTE ..... 104

5.5 META-ANÁLISIS ..... 105

**6 ASPECTOS ÉTICOS Y FINANCIACIÓN .....106**

## **RESULTADOS ..... 107**

### **1 OBTENCIÓN COHORTES ..... 109**

### **2 COHORTE DE TRATAMIENTO EMPÍRICO ..... 111**

- 2.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES SEGÚN TIPO DE TRATAMIENTO ..... 111
- 2.2 ÍNDICE DE PROPENSIÓN ..... 114
- 2.3 CURACIÓN Y MEJORÍA A LOS 14 DÍAS ..... 116
- 2.4 MORTALIDAD ..... 123
- 2.5 ESTANCIA HOSPITALARIA ..... 131

### **3 COHORTE DE TRATAMIENTO DEFINITIVO ..... 132**

- 3.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES SEGÚN TIPO DE TRATAMIENTO ..... 132
- 3.2 ÍNDICE DE PROPENSIÓN ..... 135
- 3.3 CURACIÓN Y MEJORÍA A LOS 14 DÍAS ..... 137
- 3.4 MORTALIDAD ..... 142
- 3.5 ESTANCIA HOSPITALARIA ..... 150

### **4 COHORTE DE TRATAMIENTO CONJUNTA ..... 151**

- 4.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES SEGÚN TIPO DE TRATAMIENTO ..... 151
- 4.2 ÍNDICE DE PROPENSIÓN ..... 152
- 4.3 CURACIÓN Y MEJORÍA A LOS 14 DÍAS ..... 154
- 4.4 MORTALIDAD ..... 157

## **DISCUSIÓN ..... 107**

### **1 INFLUENCIA DEL TIPO DE ANTIMICROBIANO EN EL TRATAMIENTO DE BACTERIEMIAS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BLEE ..... 109**

### **2 OTRAS VARIABLES ASOCIADAS A LA CURA Y MEJORÍA Y MORTALIDAD EN BACTERIEMIAS POR BLEE ..... 1113**

### **3 LIMITACIONES DEL ESTUDIO ..... 1119**

## **CONCLUSIONES ..... 107**

---

---

**PRODUCCIÓN CIENTÍFICA ..... 107****1 COMUNICACIONES A CONGRESOS ..... 187****2 PUBLICACIONES ..... 189****BIBLIOGRAFÍA ..... 189****ANEXOS ..... 233**

ANEXO I ..... 233

ANEXO II ..... 234

ANEXO III ..... 235

ANEXO IV ..... 236

ANEXO V ..... 237

ANEXO VI ..... 238





## **ABREVIATURAS**



ACCP: American College of Chest Physician  
AEMPS: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios  
AIC: Criterio de información de Akaike  
AIM: Archives of Internal Medicine  
AMC: amoxicilina/ácido clavulánico  
APACHE: *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*.  
AUROC: area bajo la curva ROC.  
BL/IBL: Combinación de  $\beta$ -lactámico/ Inhibidor de  $\beta$ -lactamasas  
BLEE:  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido.  
CDC: Center for Disease Control and Prevention  
CID: Clinical Infectious Diseases  
CLSI: Clinical Laboratory Standards Institute  
CMI: concentración mínima inhibitoria.  
COM: comunitaria.  
CTC: Cohorte de Tratamiento Conjunto.  
CTD: Cohorte de Tratamiento Definitivo.  
CTE: Cohorte de Tratamiento Empírico.  
DE: Desviación Estándar  
dL: decilitro  
DM: diabetes mellitus.  
EARSS: *European Antibiotics Resistance Surveillance System*.  
EC-BLEE: *E. coli* productoras de BLEE  
ECCMID: European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases  
ECG: Electro Cardiograma  
ECN: estafilococos coagulasa negativa.  
EDTA: Ácido etileno-diamino-tetra-acético  
EE.UU.: Estados Unidos de América  
EEUU: Estados Unidos de América.  
EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica.  
ESCMID: European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases  
ESGBIS: European Study Group on Bloodstream Infections and Sepsis

---

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

Exp. Rev: Expert Review

FEDER: Fondo Europeo de Desarrollo Regional

GEIH: Grupo de Estudio de la Infección Hospitalaria

HR: Hazard ratio.

IC: intervalo de confianza.

INCREMENT: An International Consortium for the clinical study of bloodstream infections caused by multidrug-resistant Enterobacteriaceae

iNOS: enzima NO-sintetasa

INR: international normalized ratio

ITU: Infección del tracto urinario

JAC: Journal of Antimicrobial Chemotherapy

JCM: Journal of Clinical Microbiology

Kg: kilogramo.

KL: Kullback-Leibler

Kp-BLEE: *Klebsiella pneumoniae* productora de BLEE

L/H: litros/hora.

MBL: metalo- $\beta$ -lactamasa

mg: miligramo.

min: minuto

mL: mililitro.

mm: milímetros.

mmHg.: milímetros de mercurio.

mmol/L: milimol/litro

NO: óxido nítrico

NOS: nosocomial.

NYHA: Escala NYHA (New York Heart Association)

OR: *odds ratio*.

PBP: *penicillin binding proteins* (Proteína fijadora de penicilina)

PCR: Reacción en cadena de la Polimerasa.

PD: farmacodinámico.

PK: farmacocinético.

PMN: leucocito polimorfonuclear.

PTB: piel y tejidos blandos.

PTZ: piperacilina/tazobactam

RCS: relacionado con los cuidados sanitarios.

Ref.: referencia.

REIPI: Red Española de Investigación en Enfermedades Infecciosas

RIC: rango intercuartílico

RR: Riesgo Relativo

SARM: *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina

SASM: *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina

SCCM: Society of critical Care Medicine

SEIMC: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

SMART: Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

SRIS: síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.

TA: tensión arterial.

TNF- $\alpha$ : Factor de necrosis tumoral alfa

TTPa: Tiempo de tromboplastina parcial activada

UCI: unidad de cuidados intensivos.

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana.

Test  $X^2$ : test de Chi-cuadrado

# INTRODUCCIÓN



## **1 $\beta$ -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO**

### **1.1 RESISTENCIA A $\beta$ -LACTÁMICOS. $\beta$ -LACTAMASAS. CONCEPTO. TIPOS.**

#### 1.1.1 Definición y clasificación

La hidrólisis enzimática es el mecanismo de resistencia más frecuente a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos en las bacterias Gram-negativas causantes de infecciones, y está causada por la presencia de  $\beta$ -lactamasas en el espacio periplásmico. Las  $\beta$ -lactamasas son enzimas proteicas fijadoras de penicilinas, que catalizan la hidrólisis del anillo  $\beta$ -lactámico separando el enlace amida, impidiendo al antibiótico inhibir la síntesis de la pared celular. El grado de resistencia que generan estas enzimas se correlaciona con su concentración, afinidad por los diferentes  $\beta$ -lactámicos y sus propiedades hidrolíticas (Murray 2007).

Se han propuesto diferentes esquemas de clasificación de las  $\beta$ -lactamasas en función de la estructura molecular y de la función de la proteína. La clasificación molecular, también conocida como clasificación de Ambler, es la más sencilla y menos controvertida ya que está basada en las secuencias aminoacídicas. Esta clasificación divide a las  $\beta$ -lactamasas en enzimas de clase A, C y D, que necesitan un aminoácido de serina para llevar a cabo su actividad hidrolítica, y en enzimas de clase B, llamadas metalo-enzimas, que requieren un ión de zinc divalente para actuar (Ambler 1980).

La otra clasificación es la funcional de Bush y Jacoby (Bush 2009), que relaciona las enzimas con su patrón de sustratos frente a los que son activas e inhibición; esta clasificación es útil a nivel clínico y microbiológico ya que refleja la resistencia selectiva a diferentes clases de antibióticos  $\beta$ -lactámicos y los diferentes patrones de inhibición. Distingue tres grupos (Tabla 1):

**Grupo 1:** Cefalosporinas. Este grupo corresponde a la clase C de Ambler e incluye enzimas codificadas en el cromosoma y en plásmidos de muchas enterobacterias; tienen actividad cefalosporinasa y no son inhibidas por inhibidores de  $\beta$ -lactamasas como el ácido clavulánico.

**Grupo 2:** Este grupo incluye enzimas pertenecientes a las clases A y D de Ambler. Es un grupo heterogéneo de enzimas de amplio espectro de sustrato (penicilinas, cefalosporinas, oxacilina y carbapenemes) y son inhibidas por inhibidores clásicos de  $\beta$ -lactamasas (ácido clavulánico, tazobactam). Se dividen en diferentes subgrupos, uno de los cuales (2be) incluye las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE).

**Grupo 3:** Metallo- $\beta$ -lactamasas (MBLs). Corresponde a la clase B de Ambler que al requerir el átomo metálico de  $Zn^{+2}$ , se inhiben por agentes quelantes como el Ácido etileno-diamino-tetra-acético (EDTA). A diferencia de otras carbapenemasas, no son inhibidas por el ácido clavulánico y no hidrolizan monobactámicos.

Bush-Jacoby	Ambler	Sustrato preferencial	Inhibidos CLAVULÁNICO/ TAZOBACTAM	por: EDTA	Características	β-lactamasas
1	C	Cefalosporinas	No	No	Mayor hidrólisis de cefalosporinas que de bencilpenicilinas. Hidrólisis de cefamicinas.	AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1, GCC1, CMY-37
1e	C	Cefalosporinas	No	No	Hidrólisis incrementada de ceftazidima y de otros oximiino- β -lactámicos	GC1, CMY-37
2 a	A	Penicilinas	Sí	No	Mayor hidrólisis de bencilpenicilinas que cefalosporinas.	PC1
2 b	A	Penicilinas, cefalosporinas de 1ª generación	Sí	No	Hidrólisis similar de bencilpenicilinas y de cefalosporinas.	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2 be	A	Cefalosporinas 1ª-4ª generación, monobactámicos.	Sí	No	Hidrólisis elevada de oximiino- β -lactámicos	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2 br	A	Penicilinas	No	No	Resistentes a Clavulánico, Sulbactam y Tazobactam	TEM-30, SHV-10
2 ber	A	Cefalosporinas 1ª-4ª generación, monobactámicos	No	No	Hidrólisis elevada de oximiino- β -lactámicos y resistencia a Clavulánico	TEM-50
2c	A	Carbenicilina	Sí	No	Hidrólisis elevada de carbenicilina	PSE-1, CARB-3
2 ce	A	Carbenicilina, cefepima	Sí	No	Hidrólisis elevada de carbenicilina, cefepima y cefpiroma	RTG-4
2 d	D	Cloxacilina	Variable	No	Hidrólisis elevada de cloxacilina y oxacilina	OXA-1, OXA-10
2 de	D	Cefalosporinas 1ª-4ª generación	Variable	No	Hidrólisis de cloxacilina, oxacilina y oximiino- β -lactámicos	OXA-11, OXA-15
2 df	D	Carbapenemes	Variable	No	Hidrólisis de cloxacilina, oxacilina y carbapenemes	OXA-23, OXA-48
2 e	A	Cefalosporinas 1ª-4ª generación	Sí	No	Hidrólisis de cefalosporinas	CepA
2 f	A	Carbapenemes	Variable	No	Hidrólisis elevada de carbapenemes, oximiino- β -lactámicos y cefamicinas	KPC-2, IMI-1, SME-1
3 a	B	Carbapenemes	No	Sí	Hidrólisis de amplio que incluye pero no monobactámicos	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1, L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1
3 b	B	Carbapenemes	No	Sí	Hidrólisis de carbapenemes	CphA, Sfh-1

**Tabla 1: Clasificación molecular y funcional de la β-lactamasas, Ambler, 1980; Bush y Jacoby, 2009 (Bush 2009)**



### 1.1.2 Origen de las $\beta$ -lactamasas

Está ampliamente aceptado que las  $\beta$ -lactamasas evolucionaron a partir de mutaciones en los genes codificantes de las proteínas fijadoras de penicilinas (*penicillin binding proteins*, PBP) ancestrales implicadas en la biosíntesis y el mantenimiento de la pared celular bacteriana. En la actualidad se piensa que las diferentes clases de  $\beta$ -lactamasas tienen su origen en una PBP ancestral primordial, a partir de la cual evolucionaron de forma independiente.

## **1.2 $\beta$ -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO. DEFINICIÓN, CLASIFICACIÓN**

Las BLEE son enzimas de codificación principalmente plásmidica con capacidad para inactivar los antibióticos oxi-imino- $\beta$ -lactámicos (como cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima) y aztreonam (Bradford 2001). La definición “fenotípica” usada frecuentemente para las BLEE es que son enzimas  $\beta$ -lactamasas capaces de conferir resistencia bacteriana a penicilinas, cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación y aztreonam, pero no a cefamicinas o carbapenemes, y son inhibidas por inhibidores de  $\beta$ -lactamasas. Se conocen con el nombre de espectro extendido por hidrolizar un rango de  $\beta$ -lactámicos más amplio que las enzimas TEM-1, TEM-2 y SHV-1 de las cuales proceden algunas de ellas por sustitución de algunos aminoácidos. Son estructuralmente diferentes de las  $\beta$ -lactamasas cromosómicas con actividad cefalosporinasa, inducibles, producidas por microorganismos como *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp. y *Pseudomonas aeruginosa* (éstas pertenecen al tipo C de Ambler y no son inhibidas por inhibidores de  $\beta$ -lactamasas). Las BLEE son producidas con mayor frecuencia por distintas especies de enterobacterias, como *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Salmonella* sp. y *Enterobacter* spp. (Paterson 1999).

Con frecuencia, los plásmidos que vehiculan las BLEE pueden incluir determinantes de resistencia para otros antibióticos, como ocurre frecuentemente con los aminoglucósido, trimetoprim/sulfametoxazol y mecanismos de bajo nivel de resistencia a quinolonas; además, es frecuente la existencia de co-resistencia a quinolonas en cepas productoras de BLEE causada por mutaciones cromosómicas, lo que probablemente refleja la diseminación clonal de determinadas cepas.

Se han descrito varios tipos de BLEE: TEM, SHV, CTX-M, OXA y otros (<http://www.lahey.org/Studies/>).

#### 1.2.1 BLEE tipo TEM

Las BLEE tipo TEM, junto con las SHV, habían sido hasta hace algo más de una década las encontradas con más frecuencia en todo el mundo (Jones 2009). Estas BLEEs se originaron por mutaciones en la secuencia de las  $\beta$ -lactamasas TEM-1 y TEM-2, que confieren resistencia a ampicilina pero no a cefalosporinas de tercera generación (Jones 2009).

TEM-1 se encuentra en más del 40% de los aislamientos de *E. coli* y producía más del 90% de los casos de resistencia a ampicilina en este microorganismo (Datta 1965, Jacoby 2003). El hecho de estar presente en plásmidos y transposones facilitó su diseminación a otras especies; de hecho, TEM-1 era la  $\beta$ -lactamasa que se encontraba con más frecuencia en bacterias Gram negativas (Livermore 1995). La presión antibiótica ejercida por el uso de cefalosporinas de tercera generación desde los años 80 probablemente contribuyó a la selección y diseminación de las mutaciones puntuales en los genes que codifican estas  $\beta$ -lactamasas que determinaban el aumento de su espectro hacia las cefalosporinas de espectro extendido.

Entre las BLEE tipo TEM que han tenido una importante diseminación en los últimos años podemos resaltar TEM-24 en cepas clonales de *Enterobacter aerogenes* y otras enterobacterias, en Francia e Italia (Bertrand 2003, Perilli 2002), y también en España (Salso 2003, Cantón 2002). Otra BLEE tipo TEM ampliamente descrita en los últimos años ha sido TEM-52, encontrada en áreas dispersas del mundo (Qelle 2001).

### 1.2.2 BLEE tipo SHV

Las BLEE tipo SHV proceden de la  $\beta$ -lactamasa SHV-1, que se codifica en el cromosoma de más del 90% de las cepas de *Klebsiella pneumoniae* (Babini 2000, Chaves 2001, Livermore 1995); además, esta enzima se puede encontrar en plásmidos en un bajo porcentaje de cepas de enterobacterias resistentes a ampicilina (Du bois 1995, Miranda 2004). Mutaciones en determinados aminoácidos de esta enzima han dado lugar al aumento de su espectro, de manera que estas nuevas enzimas son BLEE. Existe un número menor de BLEE tipo SHV, aproximadamente 50, que las derivadas de TEM-1 y TEM-2.

La mayoría de las BLEE tipo SHV se han descrito en aislamientos de *K. pneumoniae*, aunque también han aparecido en *E. coli*, entre otras enterobacterias. Las BLEE tipo SHV fueron las primeras que se describieron en España (Baquero 1988) y las implicadas en los primeros brotes producidos por enterobacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación (Fernández-Rodríguez 1992). Este brote ocurrió entre los años 1988 y 1989 en el hospital Clínico San Carlos de Madrid, en el que se detectaron aislamiento de *K. pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *E. coli* y *K. oxytoca* productores de SHV-2.

Durante años, tanto en la cuenca mediterránea como en países asiáticos a orillas del Pacífico, la BLEE más frecuente fue SHV-12 (Ben-Hamouda 2004, Laksai 2000, Neonakis 2003, Weill 2004, Chanawong 2001, Kim J. 2005, Lee SH. 2003). En un estudio multicéntrico en Canadá (Mulvey MR. 2004) encontraron que SHV-12 era la BLEE más frecuentemente producida por aislamientos de *E. coli* y *K. pneumoniae* en todos los hospitales participantes, siendo el 39% de las BLEE detectadas. En España SHV-12 se ha descrito también en cepas de *E. coli* que producían infecciones en animales (Briñas 2003, Teshager 2000) y recientemente, como causa de infección comunitaria en humanos (Rodríguez-Baño, J Antimicrob Chemother 2009).

### 1.2.3 BLEE tipo CTX-M

Las  $\beta$ -lactamasas CTX-M constituyen un grupo de BLEE que, al contrario que las demás, hidrolizan más eficazmente cefotaxima (de ahí su denominación) que ceftazidima, aunque algunas variantes hidrolizan también ceftazidima con gran eficacia (Bonnet 2001, Stürenburg 2004). Se describieron en 1989, cuando Bauernfeind y cols. (Bauernfeind 1990) informaron de una cepa de *E. coli* que producía una BLEE que no era TEM ni SHV y que hidrolizaba cefotaxima, a la que llamaron CTX-M-1.

Se ha encontrado una gran homología, superior al 90%, entre los genes que codifican las enzimas CTX-M y los genes que codifican unas enzimas de similar espectro presentes en el cromosoma de especies de *Kluyvera*, por lo que se supone que los genes que codifican las  $\beta$ -lactamasas CTX-M fueron movilizados desde el cromosoma de *Kluyvera* a uno o varios plásmidos que se han diseminado por otras especies (Bonnet R. 2004).

Las  $\beta$ -lactamasas CTX-M se han diseminado muy rápidamente por todo el mundo entre una gran variedad de enterobacterias, y son desde los primeros años del siglo XXI, las BLEE más frecuentes. Las enzimas tipo CTX-M pueden dividirse en 5 grupos: grupo CTX-M-1 (que incluye CTX-M-15, una de las BLEE más prevalente en el mundo), grupo CTX-M-2, grupo CTX-M-8, grupo CTX-M-9 (que incluye CTX-M-14, que ha sido la BLEE mas frecuente en España durante la primera década del siglo XXI) y grupo CTX-M-25, cada uno de los cuales incluye varias enzimas específicas.

#### 1.2.4 BLEE tipo OXA

Confieren resistencia a ampicilina y cefalosporina y se caracterizan por tener una alta actividad hidrolítica frente a oxacilina y cloxacilina, y porque se inhiben en grado variable por ácido clavulánico. Es un grupo heterogéneo con similitudes fenotípicas más que genotípicas entre sí, ya que la homología entre algunos de sus integrantes es solo del 20%. La mayoría de las BLEE tipo OXA derivan de OXA-10 y se han descrito fundamentalmente en *P. aeruginosa*. La mayoría de estas BLEE se aislaron inicialmente en Turquía y Francia (Bradford 2001).

#### 1.2.5 Otros tipos de BLEE

Existen otros tipos de BLEE de menor trascendencia, como PER, VEB, GES, TLA, SFO ó BEL, de epidemiología restringida a determinadas áreas.

### **1.3 EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR Y CLÍNICA GENERAL DE LAS BLEE.**

#### 1.3.1 Epidemiología molecular y clínica

Hasta finales de los años noventa la mayoría de las BLEE (principalmente de tipo TEM y SHV) se aislaban en cepas de *K. pneumoniae* implicadas en brotes nosocomiales, sobre todo en unidades de cuidados intensivos. Sin embargo, en los primeros años del siglo XXI se produjo un importante cambio epidemiológico, con mayor presencia de BLEE en cepas de *E. coli* procedentes del medio extrahospitalario (principalmente en aislamientos de muestras urinarias) y en relación con BLEE de tipo CTX-M (Martínez-Martínez 2010, Díaz 2009, Alpuche 2002, Diestra 2008, Livermore 2005, Livermore 2007).

Este incremento en el número de aislamientos BLEE ha ido ocurriendo de forma paulatina hasta la actualidad, donde las cifras que se manejan no son nada discretas, ascendiendo a más de 170 BLEE de tipo TEM, más de 120 de tipo SHV (detectadas sobre todo en *E. coli* y *Klebsiella* spp.) y en torno a 11 de tipo OXA (descritas principalmente en *P. aeruginosa*) dentro de la clase D. De tipo CTX-M hoy día se conocen más de 65 variantes (<http://www.lahey.org/Studies/>).

La epidemiología de las BLEE, aunque como se ha indicado con una incidencia en general creciente, no se ha distribuido por igual en las distintas regiones del planeta. Así, los datos obtenidos a partir de un estudio global de monitorización de tendencias de resistencia en enterobacterias (SMART), mostraron en la región Asia-Pacífico (Hsueh 2012), respectivamente, unos porcentajes de producción de BLEE del 40.8 % y del 21.5% en *E. coli* y *Klebsiella* spp. respectivamente, mientras que en Sudamérica el porcentaje de *E. coli* productor de BLEE (EC-BLEE) fue del 23.6% (Hawser 2012). Los últimos datos registrados por el European Antimicrobial Surveillance System (EARSS), que se encarga de monitorizar las resistencias antibióticas en patógenos invasivos desde 1998, muestran un aumento en la frecuencia de *E. coli* resistente a cefalosporinas de 3ª generación en Europa entre 2010 y 2013 (EARSS) pasando la media europea

del 9.5% al 12.6%. En nuestro país esta frecuencia es mayor, habiendo pasado del 12.1% al 13.3% (el 86.3% de estas resistencias a 3ª generación de cefalosporinas se debían a cepas productoras de BLEE). Podemos ver cómo, excepto en Malta y Hungría donde han bajado un escalón de resistencia, la tendencia ha sido al aumento de la frecuencia de cepas resistentes; en Portugal, Grecia e Italia la frecuencia ya es del 10-25%. En Estados Unidos (EE.UU.), la situación es heterogénea, pero probablemente la prevalencia de enterobacterias productoras de BLEE es algo inferior a la de los países del sur de Europa (Livermore 2007, Jones 2008).

Para ilustrar la situación en España y su evolución, comentaremos brevemente 3 estudios. En uno que analizó la prevalencia de BLEE en infecciones causadas por *E. coli* y *Klebsiella* spp. en Barcelona durante el período 1994-1996 (Sabaté 2002), sólo se encontraron un 0.14% y 0.17% de cepas productoras de BLEE, respectivamente. Cuatro años más tarde se publicaron las conclusiones del primer estudio del Grupo de Estudio de la Infección Hospitalaria (GEIH) de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) que se realizó en el año 2000 en cuarenta hospitales españoles (Hernández 2003). Se aislaron cepas de EC-BLEE en treinta y tres de los centros participantes (82.5%), con una prevalencia que alcanzaba ya el 2.4%. En el segundo estudio del GEIH (Díaz 2009) realizado en 2006, los aislamientos de EC-BLEE se dieron en el 100% de los 44 centros participantes y, en este caso la prevalencia de cepas productoras de BLEE se había doblado, siendo del 4.04%, aislándose sobre todo en muestras urinarias procedentes de la comunidad. Los aislamientos de *K. pneumoniae* productor de BLEE (Kp-BLEE) se dieron en 34 centros y con una prevalencia del 5.04%, aunque con una variabilidad importante entre centros. Ortega *et al.* publicaron una prevalencia similar en EC-BLEE (4%) en un estudio retrospectivo que abarcaba el período 1991 a 2007, con el matiz del aumento de la prevalencia hasta el 8% en los 2 últimos años del estudio, respecto al 2% del período anterior (Ortega 2009). Estos datos confirmaron la expansión creciente de EC-BLEE y Kp-BLEE también en nuestro país.

Un dato de gran interés que mostró el estudio GEIH-BLEE 2000 es que del 50% de las cepas de EC-BLEE eran de origen comunitario (Hernández 2003). Posteriormente, y coincidiendo con estos resultados, Rodríguez-Baño *et al.* publicaron un estudio realizado en Sevilla, en el que se confirmó que la prevalencia de las cepas resistentes está adquiriendo mayor importancia en el medio extrahospitalario y que en España prevalecen las enzimas del grupo CTX-M por encima de TEM y SHV (Rodríguez-Baño 2004). Esta diferencia fue aún más marcada en el estudio GEIH-BLEE 2006 (Díaz 2009), donde de 112 cepas productoras de BLEE aisladas en pacientes con infecciones adquiridas en la comunidad (95% urinarias), el 69% eran del grupo CTX-M (con predominio de las CTX-M-9, seguidas de CTX-M-14), un no desdeñable 32% pertenecían a las del grupo SHV (31 de 36 eran SHV-12) y sólo en el 6% de los casos se identificaron BLEE del grupo TEM.

Desde una perspectiva clínica el impacto de este fenómeno ha sido muy relevante, dado el patrón de multirresistencia que presentan las bacterias productoras de BLEE (Paterson 2005). En el caso de EC-BLEE, es importante el hecho de que estas cepas son frecuentemente resistentes a la mayoría de antimicrobianos recomendados para el tratamiento de infecciones de la comunidad causadas por enterobacterias. Por tanto, esta aparición y diseminación global de EC-BLEE, sobre todo productoras de enzimas CTX-M, es un fenómeno de gran trascendencia epidemiológica y clínica.

En los últimos años, la clara asociación de *E. coli* con BLEE CTX-M, y de *K. pneumoniae* con SHV y enzimas TEM, se ha ido progresivamente difuminando, ya que las enzimas CTX-M también se han extendido a *Enterobacter* spp. y *K. pneumoniae* siendo ya las mas frecuentes también en estas bacterias (Cantón 2006, Lewis 2007, Cantón 2002, Valverde 2008).



### 1.3.2 Asociación con plásmidos y clones exitosos en *E. coli* y *Klebsiella* spp.

#### Dispersión de las BLEE

La diseminación tan efectiva de las BLEE a lo largo de estos años se ha producido por dos mecanismos: por diseminación de determinados clones exitosos (diseminación clonal) y por la diseminación de elementos genéticos móviles (secuencias de inserción, transposones y plásmidos) entre distintos clones y especies (Cantón 2008):

- a) **Diseminación a través de elementos móviles (plásmidos, transposones, integrones).** La resistencia a antibióticos se incrementa rápidamente y se expande con gran celeridad, especialmente, cuando los genes de resistencia son transferidos de forma horizontal por medio de plásmidos o integrones capaces de transmitirse entre diferentes cepas, entre diferentes especies e incluso entre diferentes familias bacterianas (Frost 2005, Bennet 2004). Los genes que codifican las BLEE se localizan frecuentemente en plásmidos que han ido evolucionando mediante la adquisición de nuevos genes de resistencia asociados a diferentes elementos genéticos como secuencias de inserción, integrones o transposones, lo cual podría haber acelerado la evolución de la diversidad genética y rápida expansión de los genes que codifican BLEE (Chong 2011).

Actualmente, la alta prevalencia de los genes BLEE en diferentes regiones europeas se debe en gran medida a la transferencia horizontal de plásmidos entre clones no relacionados y clones epidémicos locales e internacionales. Los genes BLEE se han descrito en plásmidos de características variables en cuanto a su tamaño y en cuanto al hecho de que sean o no conjugativos (Bonnet 2004).

Los plásmidos que codifican BLEE de tipo CTX-M suelen ser transferibles por conjugación. Esta propiedad explica la fácil diseminación de la mayoría de plásmidos que portan los genes *bla*<sub>CTX-M</sub> incluso en diferentes países. Un ejemplo lo encontramos en la diseminación plasmídica del gen que codifica CTX-M-15 entre los clones ST131 ST405, ST354, ST28 y ST695 de *E. coli*, en una cepa de *S. sonnei* aislada en un paciente de República Checa, en *Salmonella entérica serovar enteritidis* en el Reino Unido y en una cepa de *K. pneumoniae* en España (Carattoli 2009)). Además, *E. coli* 025:H4-ST131 es capaz de adquirir distintos plásmidos encontrándose como productora de otras CTX-M (CTX-M-1, CTX-M-9, CTX-M-14) aunque en mucha menor proporción (Mora 2011).

- b) **Diseminación clonal:** uno de los principales factores que intervienen en la actual elevada prevalencia de enterobacterias productoras de BLEE es la diseminación clonal. El ejemplo más representativo es la reciente y rápida diseminación global de un clon de *E. coli* denominado 025:H4-ST131 ó resumidamente ST131. Este clon, que engloba distintos subclones, incluye muy frecuentemente cepas resistentes a quinolonas, y en un porcentaje de ellas se asocia con la diseminación pandémica del gen *bla* CTX-M-15. Este clon se ha detectado prácticamente en todo el mundo (Coque 2008, Aibinu 2012, Peirano 2010). En *Klebsiella* spp. también se han producido diseminaciones clonales. En Grecia, una cepa endémica productora de la BLEE SHV-5 que apareció en la década de los 90 adquirió recientemente el plásmido que codifica la carbapenemasa VIM-1 constituyendo una grave amenaza y ampliando su expansión clonal a Francia (Kassis-Chikhani 2006). En Corea se ha descrito una amplia expansión clonal de una cepa de *K. pneumoniae* productora de SHV-12, causando problemas epidemiológicos (Yoon 2011). Uno de los ejemplos preocupantes es el del clon de *K. pneumoniae* ST258 productor de BLEE y/o carbapenemasas tipo KPC. En 2006 un aislamiento extremadamente resistente de *K. pneumoniae* productor de KPC-3 apareció en Israel

(Leavitt 2007), causando un brote con diseminación clonal a nivel nacional. Esta cepa se describió genéticamente relacionada con cepas que habían producido brotes en varias zonas de EE.UU. (Navon-Venezia 2009). Posteriormente este clon también fue encontrado en otras muchas zonas del mundo como China, Israel, Europa y América del Sur (Agodi 2011, Villegas 2006).

### 1.3.3 Incidencia general y por microorganismos

#### **a) Kp-BLEE**

La epidemiología de aislamientos de Kp-BLEE ha sido ampliamente estudiada.

Durante los años 80 y primeros 90, y desde la descripción de la primera BLEE (Kliebe 1985), la mayoría de estas enzimas se describían en esta especie. Las enzimas BLEE más frecuentemente producidas por estas cepas eran entonces las de tipo TEM y SHV. El consumo elevado de cefalosporinas y determinadas características epidémicas de las cepas habría favorecido la diseminación de Kp-BLEE en determinados centros o unidades con factores predisponentes para la transmisión cruzada entre pacientes sometidos a múltiples manipulaciones (Brun-Bruissson 1987, Paterson 1999, Rice 1996, Peña 1998, Wiener 1999). De hecho, *K. pneumoniae* puede colonizar la piel y los fómites (Drusano 1998, Podschun 1998), y se ha visto tradicionalmente implicado con mayor frecuencia que el resto de enterobacterias en brotes nosocomiales (Marchandin 1999, Paterson 2001). De hecho, los brotes nosocomiales causados por Kp-BLEE se han descrito con más frecuencia en las unidades de cuidados intensivos, unidades de neonatología y en servicios quirúrgicos. Los pacientes ingresados en estos servicios suelen tener enfermedades de base graves, están sometidos a una presión antibiótica alta y a múltiples procedimientos invasivos. Además la estancia hospitalaria en estos pacientes suele ser prolongada aumentando la exposición a la flora nosocomial (Briñas 2005, Podschun 1998) y el no cumplimiento de la higiene de manos y cambio de guantes entre el personal

sanitario se ha demostrado en diversos estudios que facilitan la diseminación de estos microorganismos (Álvarez-Lerma 2002, Gniadkowski 2001). Finalmente se ha demostrado la importancia de reservorios ambientales ocultos en el mantenimiento de estos brotes (Vergara-López 2013).

## **b) EC-BLEE**

Como hemos visto, a finales de los años 90 y principios del siglo XXI se ha producido un aumento muy llamativo de las infecciones causadas por EC-BLEE, principalmente en pacientes no hospitalizados. Este aumento se ha producido sobre todo a expensas de cepas productoras de enzimas de la familia CTX-M (Bou 2002, Rodríguez-Baño 2004, Pitout 2004, Rodríguez-Baño 2006). La diseminación de CTX-M en cepas de *E. coli* se ha producido a través de la transmisión entre diversos clones de plásmidos portadores de la enzima (Velasco 2007) y a través de la diseminación clonal en la comunidad y centros sanitarios de determinados clones productores, sobre todo, de CTX-M-15 en cepas ST131 (Coque 2008). Aunque a finales del siglo XX era pocos los brotes nosocomiales extensos descritos causados por EC-BLEE, implicándose a veces la transmisión de plásmidos desde ó a otras especies, a la fecha éstos se están describiendo con más frecuencia (Shi 2015, Naseer 2007).

Globalmente, aproximadamente la mitad de los casos de infección por EC-BLEE afectan a pacientes no hospitalizados (Rodríguez-Baño 2004, Pitout 2005, Woodford 2004, Zhang 2014), en los que el tipo más frecuente de infección es la infección del tracto urinario (Rodríguez-Baño 2004, Pitout 2005, Rodríguez-Baño 2008).

Además, en estudios llevados a cabo en el Área Hospitalaria del Virgen Macarena, el 12% de los pacientes no hospitalizados y el 16% de los pacientes hospitalizados con infecciones debidas a EC-BLEE fueron bacteriémicas, lo que supone un auténtico desafío para los médicos que atienden estos pacientes (Rodríguez-Baño 2004, Rodríguez-Baño 2006), ya que los antimicrobianos

habitualmente recomendados como primera línea de terapia empírica para el tratamiento de la sepsis comunitaria y nosocomial originadas en el tracto urinario, así como de infecciones polimicrobianas de tejidos blandos e infecciones intraabdominales, incluyen las cefalosporinas y las quinolonas (Sobel 2000, Lipsky 2004, Solomkin 2003), fármacos que no son activos frente a la mayoría de estas cepas. El perfil de multirresistencia antibiótica que expresan estas cepas ocasiona, especialmente en el ámbito hospitalario, un problema terapéutico de notables dimensiones (Pujol 2003).

### **c) Otras enterobacterias productoras de BLEE**

Las BLEE se han ido identificado de forma creciente en otras enterobacterias, sobre todo en *Proteus mirabilis*, *Salmonella* spp. y *Enterobacter* spp. (Brun-Buisson 1987, Winokur 2001, Romero 2014). Las cepas de *Enterobacter* spp. productoras de BLEE suelen ser de origen nosocomial, mientras que en el caso de *Proteus* y *Salmonella* suelen ser de origen comunitario.

#### 1.3.4 Reservorios

Los reservorios de estas enzimas pueden ser de tipo ambiental, animal y humano. En humanos, los portadores intestinales son importantes desde el punto de vista epidemiológico (Rodríguez-Baño 2008 JAC), dado que el tracto digestivo es el principal reservorio de EC-BLEE (García-Hernández 2011). Es muy relevante señalar que en áreas endémicas, la prevalencia de colonización fecal en la población no relacionada con el sistema sanitario se ha incrementado en los últimos años de manera muy importante (Rodríguez-Baño 2008 JAC, Valverde 2004).

En cuanto a los reservorios animales, se han estudiado animales de granja, de compañía y salvajes. En España, en un estudio de muestras fecales de pollos en 2001 se detectaron en el 1.6% de los aislados analizados, *E. coli*

productores de SHV-12 o CTX-M-14 (Briñas 2003). En 2003 los mismos autores repitieron el muestreo hallando un incremento del porcentaje (5%) y de la diversidad de enzimas (CTX-M-14, CTX-M-9 y SHV-12) (Briñas 2005). En Cataluña se llevó a cabo un estudio de cepas de EC-BLEE obtenidas en granjas de pollos, cerdos y conejos. Se detectó un mayor número y más variedad de BLEE entre las cepas de *E. coli* aisladas de pollos (CTX-M-1, CTX-M-14, CTX-M-9, CTX-M-32, SHV-12, SHV-2, SHV-5 y TEM-52) y un menor número y variedad entre las cepas aisladas de cerdos (CTX-M-1, SHV-12 y SHV-5) y de conejos (CTX-M-14 y CTX-M-9) (Blanc 2006, Mesa 2006). También se ha estudiado la colonización en animales salvajes como es el caso de aves acuáticas, encontrándose en algunas de ellas (Tausova 2012).

Se han hallado diferentes posibles reservorios ambientales de estas enzimas, como es el caso de los fómites en los hospitales o residencias de ancianos, aguas residuales, etc. En un trabajo reciente en la India se investigó la presencia de genes de resistencia a antibióticos en *E. coli* en las aguas residuales de un hospital, hallándose diferentes genes, entre ellos genes de BLEE (Diwan 2012).

En algunos estudios se ha demostrado que casi el 100 % de la carne de origen aviar para el consumo humano contiene EC-BLEE (Egea 2012).

#### 1.3.5 Factores de riesgo y mecanismos de transmisión en la comunidad

Se han realizado diversos estudios para identificar los factores de riesgo para infecciones por microorganismos productores de BLEE en pacientes no hospitalizados, y específicamente para las del tracto urinario. Los resultados hallados en uno de los primeros de estos estudios, realizado en Israel, fueron que haber estado ingresado en los tres meses previos, haber recibido tratamiento antibiótico en ese periodo, ser mayor de 60 años y varón, ser diabético, que la infección fuera por *K. pneumoniae* y haber sido tratado previamente con cefalosporinas de segunda o tercera generación, quinolonas

y penicilina, predisponen a una infección por bacterias productoras de BLEE (Colodner 2003). En estudios específicos para infecciones por EC-BLEE en la comunidad realizados en nuestro medio se encontró que la diabetes mellitus, la infección relacionada con los cuidados sanitarios, la infección urinaria de repetición, y el haber recibido recientemente aminopencilinas, quinolonas o cefalosporinas eran factores de riesgo (Calbo 2006, Rodríguez-Baño 2006, Rodríguez-Baño 2004, Rodríguez-Baño 2008 AIM).

La colonización con cepas multirresistentes, incluyendo las productoras de BLEE, constituye un riesgo e incluso un prerrequisito para la infección por estos microorganismos (Valverde 2004). En España se ha comprobado el aumento de portadores fecales de EC-BLEE. En Barcelona analizaron a lo largo de tres periodos diferentes entre 2001 y 2002 la presencia de enterobacterias productoras de BLEE positivas en heces de pacientes no hospitalizados (Mirelis 2003). Hallaron un incremento en el porcentaje de portadores fecales de cepas productoras de BLEE del 2.1 al 7.5%. El mismo hecho se descubrió en Madrid donde analizaron la presencia de enterobacterias productoras de BLEE en muestras de heces recogidas de pacientes ingresados o no en los años 1991 y 2003 (Valverde 2004). La prevalencia de portadores fecales de cepas productoras de BLEE en el primer periodo fue 0.7% en los pacientes ambulatorios y 0.3% en los hospitalizados. Mientras que en 2003 la prevalencia de los primeros fue 5.5% y de los segundos 11.8%, se había invertido según el origen del paciente, pero aumentado en general en número, así como en variedad de tipo de BLEE. Más recientemente en Sevilla se calculó la prevalencia de portadores fecales en pacientes con infecciones del tracto urinario por EC-BLEE de adquisición comunitaria, siendo 67.9%. A su vez la investigaron en familiares convivientes de dichos pacientes y en familiares no convivientes, siendo las prevalencias 27.4 y 15.6% respectivamente. También hallaron una prevalencia del 7.4% en un grupo control de pacientes de urgencias no relacionados con los primeros. En dicho estudio se concluyó que tanto la adquisición común, debida tal vez a la alimentación o hábitos alimenticios, como la transmisión persona a persona

pueden contribuir a la diseminación de las BLEE (Rodríguez-Baño 2008 JAC). Estudios posteriores han confirmado la importancia de la presencia de cepas portadoras de BLEE en los alimentos (sobre todo pollo) en la epidemiología de las BLEE en la comunidad (Doi 2010, Egea 2012, Overdevest 2014).

#### 1.3.6 Factores de riesgo y mecanismos de transmisión en centros sanitarios

Los brotes nosocomiales de Kp-BLEE pueden estar causados por la diseminación de un plásmido entre distintas especies de enterobacterias o más frecuentemente por la diseminación de un clon (Marchandin 1999, Palucha 1999, Paterson 2001 JCM). El consumo elevado de cefalosporinas y quinolonas puede favorecer la selección de estos clones, algunos de los cuales se diseminan con particular facilidad en centros o servicios hospitalarios mediante transmisión cruzada entre pacientes de riesgo (Brun-Bruissson 1987, Paterson 1999, Rice 1996, Peña 1998, Wiener 1999). También se han descrito brotes de *Enterobacter* spp. productores de BLEE (Cantón 2006, Valverde 2008), así como situaciones complejas producidas por *K. pneumoniae* multiclonal (Valverde 2008).

En el caso de *E. coli*, las infecciones nosocomiales han sido causadas principalmente por cepas no relacionadas clonalmente, sugiriéndose que podrían haber sido importados de la comunidad al hospital (Ben-Ami 2006, Harris 2007, Rodríguez-Baño 2006 CID), aunque en otros puede haber existido transmisión horizontal dentro del hospital y en centros de larga estancia (Arlet 1994, Wiener 1999, Rodríguez-Baño 2006 CID).

Otro factor a tener en cuenta y que facilita la dispersión es que la estancia de estos pacientes en el hospital suele ser prolongada, aumentando así la exposición a la flora nosocomial (Podschun 1998). El hecho de que el personal no cumpla estrictamente las medidas de higiene de manos entre distintos pacientes favorece la transmisión de estas bacterias entre



enfermos ingresados a través de las manos del personal sanitario (Alvarez-Lerma 2002, Gniadkowski 2001).

Ante la aparición de brotes de microorganismos productores de BLEE en el hospital hay que poner en marcha medidas específicas de control, como la búsqueda activa de pacientes colonizados, la limpieza ambiental exhaustiva, la instauración de precauciones de contacto con los pacientes colonizados o infectados y la restricción del uso de cefalosporinas de tercera generación, como se ha demostrado en diversos trabajos (Asensio 2000, Bradford 2001, Peña 1998, Velasco 2009).

## **2. ASPECTOS GENERALES DE LAS BACTERIEMIAS POR ENTEROBACTERIAS BLEE**

### **2.1 CONCEPTO DE BACTERIEMIA, SEPSIS, SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA. TIPOS DE BACTERIEMIA. BACTERIEMIA PERSISTENTE, TRANSITORIA Y DE BRECHA**

La bacteriemia se define como la presencia de bacterias viables en la sangre y se pone de manifiesto mediante el aislamiento de éstas en los hemocultivos.

La intromisión de las bacterias en el torrente sanguíneo ocasiona una respuesta inflamatoria en el huésped a través de la liberación de mediadores inflamatorios. Entre dichos mediadores destacan las **citocinas** que se liberan cuando los linfocitos y los macrófagos del huésped (por medio del receptor CD14) interactúan con componentes de los microorganismos: lipopolisacáridos de los bacilos gram negativos (antigua 'endotoxina'); y peptidoglicano, ácido teicoico y proteínas de superficie en el caso de los gram positivos. Entre la citocinas destacan por su potente actividad proinflamatoria el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y las interleukinas, cuya cascada de acción puede terminar con la producción de óxido nítrico (NO) y la enzima NO-sintetasa (iNOS). Ambas (NO, iNOS), actuando sobre el endotelio provocan hipoperfusión y la consecuente

lesión tisular. En la respuesta inflamatoria también intervienen **enzimas** (complemento, fibrinolíticos y kininas) que junto a las citoquinas son responsables de los diferentes signos y síntomas del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) (Young 2000).

Se recomienda clasificar la gravedad clínica inicial del paciente con sospecha de bacteriemia de acuerdo con los criterios internacionales de la gravedad del SRIS en **sepsis, sepsis grave y shock séptico**. Estos términos fueron acuñados en 1992 y posteriormente revisados por las conferencias de consenso de la American College of Chest Physician (ACCP) y la Society of critical Care Medicine (SCCM) (Levy 2003, Dellinger 2004).

- **SRIS:** El síndrome de respuesta inflamatoria sistémica comprende un conjunto de signos y síntomas que nos permiten detectar la activación del sistema inmune como respuesta a una infección generalizada, traumatismo, pancreatitis, etc. Se considera que un paciente presenta un SRIS si algunas de las variables descritas en la tabla 2 están presentes.

- **Sepsis:** Se define como el SRIS causado por una infección.

- **Sepsis grave:** sepsis asociada a algún signo de disfunción o hipoperfusión de un órgano, considerando como tales la presencia de alguno de los siguientes:

- Acidosis metabólica.
- Hipoxemia arterial ( $\text{PaO}_2 < 75 \text{ mm Hg}$  ó  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 250$ ).
- Oliguria ( $< 0.03 \text{ L/h}$  durante 3 horas ó  $< 0,7 \text{ L/H}$  durante 24 horas).
- Coagulopatía (aumento en tiempo de protrombina ó disminución de plaquetas del 50%, ó  $< 100.000/\text{mm}^3$ ).
- Encefalopatía (cifra  $< 14$  en la escala Glasgow).

- **Shock séptico:** hipotensión (presión sistólica  $< 90 \text{ mmHg}$ , reducción de ésta de  $> 40 \text{ mm Hg}$  respecto a la basal o presión arterial media  $< 60 \text{ mm Hg}$ ) que persiste al menos 1 hora a pesar de la administración de fluidos, en asociación

con signos de hipoperfusión ó disfunción de órgano, en ausencia de otra causa de hipotensión diferente de la infecciosa.

**Tabla 2. Variables definitorias del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (Levy 2003, ACCM 1992).**

Variables generales:
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Temperatura <math>&gt; 38^{\circ}\text{C}</math> ó <math>&lt; 36^{\circ}\text{C}</math></li> <li>- Taquicardia (<math>&gt; 90</math> latidos/minuto)</li> <li>- Taquipnea (<math>&gt; 20</math> respiraciones/minuto) ó hiperventilación (<math>\text{PaCO}_2 &lt; 32</math> mmHg)</li> <li>- Alteración del estado mental</li> <li>- Edemas significativos o balance hídrico positivo (<math>&gt;20</math> mL/kg en 24h)</li> <li>- Hiperglucemia (glucemia <math>&gt;120</math> mg/dL en ausencia de diabetes mellitus)</li> </ul>
Variables inflamatorias
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Leucocitosis (<math>&gt; 12.000/\text{mm}^3</math>)</li> <li>- Leucopenia (<math>&lt; 4.000/\text{mm}^3</math>)</li> <li>- Número de leucocitos normales con <math>&gt;10\%</math> de células inmaduras</li> <li>- Proteína C reactiva en plasma <math>&gt;2</math> desviaciones estándar (DE) del valor normal</li> <li>- Procalcitonina <math>&gt; 2</math> DE del valor normal</li> </ul>
Variables hemodinámicas
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hipotensión arterial (Tensión Arterial (TA) sistólica <math>&lt;90</math> mmHg, TA media <math>&lt;70</math>, o descenso <math>&gt;40</math> mmHg en adultos)</li> <li>- Saturación de oxígeno mixta venosa <math>&gt;70\%</math></li> <li>- Índice cardíaco <math>&gt;3,5</math> l/min/m<sup>2</sup></li> </ul>
Variables de perfusión tisular
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hiperlactatemia <math>&gt;1</math>mmol/L</li> <li>- Llenado capilar disminuido</li> </ul>
Otras variables de disfunción de órgano
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hipoxemia arterial (<math>\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 &lt;300</math>)</li> <li>- Oligoanuria aguda (diuresis <math>&lt;0,5</math> mL/Kg por hora)</li> <li>- Aumento de creatinina <math>&gt; 0,5</math> mg/dL</li> <li>- Alteración de la coagulación (INR <math>&gt;1,5</math> ó TTPa <math>&gt;60</math> s)</li> <li>- Ileo</li> <li>- Trombopenia (<math>&gt;100.000</math>)</li> <li>- Hiperbilirrubinemia (<math>&gt;4</math> mg/dl)</li> </ul>

Ante el crecimiento de bacterias en los hemocultivos debemos considerar si se trata de una falsa bacteriemia o una bacteriemia verdadera. No hay criterios universalmente aceptados para definir ambas situaciones, por lo que expondremos los más utilizados (Loza 2003, Cisneros 2007):

- **Falsa bacteriemia o contaminación:** situación en que se detecta crecimiento en hemocultivos de uno o más microorganismos/ bacterias que no estaban causando bacteriemia verdadera. Se debe a una contaminación al tomar la muestra o al procesarla.
- **Bacteriemia verdadera:** presencia cierta de microorganismos en la sangre del paciente. Para su diagnóstico deben utilizarse criterios microbiológicos y clínicos. Se considera habitualmente una bacteriemia como verdadera cuando:
  - a) Un microorganismo que no es una causa habitual de contaminación de muestras de sangre (por ejemplo: *Staphylococcus aureus*, enterobacterias, *P. aeruginosa*) se aísla en el hemocultivo de un paciente con un cuadro clínico compatible con bacteriemia.
  - b) Un microorganismo que puede ser contaminante de los hemocultivos (por ejemplo: *Staphylococcus* coagulasa negativo (ECN), *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., *Propionibacterium acnes* y algunas especies de *Clostridium*) se aísla en al menos dos tandas de hemocultivos obtenidos de punciones distintas de vena o de vena periférica y catéter con criterios de infección del mismo, en un paciente con un cuadro clínico compatible. En las bacteriemias por ECN es aconsejable comprobar que la especie y el antibiotipo de ambos hemocultivos positivos sean idénticos.

Además, la bacteriemia verdadera puede ser transitoria, persistente o de brecha (Loza 2003, Cisneros 2007):

- **Bacteriemia transitoria** es la que se limita espontáneamente en menos de 8-12 horas.
- **Bacteriemia continua:** es la que ocurre de manera continua durante el proceso de la infección, como ocurre en las endocarditis y otras infecciones endovasculares; se manifiesta por diversos hemocultivos positivos.
- **Bacteriemia intermitente:** es la que ocurre en determinados momentos de la infección, como ocurre en los abscesos y otras infecciones no vasculares.
- **Bacteriemia persistente** es la que se mantiene a pesar de un tratamiento apropiado, que por ejemplo para la bacteriemia por *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM) se ha establecido en  $\geq 7$  días y para la bacteriemia por *S. aureus* sensible a meticilina (SASM) en  $\geq 2-4$  días (Fowler 2003 y 2004).
- **Bacteriemia de brecha** es la que ocurre durante el tratamiento antimicrobiano apropiado y cuando los hemocultivos previos ya eran negativos.

En relación al foco de origen de la bacteriemia, se considera **bacteriemia primaria** cuando ésta ocurre sin foco reconocido en otro sitio anatómico; y **bacteriemia secundaria** a la que se desarrolla como consecuencia de un procesos infeccioso documentado en otro sitio corporal (ej. bacteriemia por *S. pneumoniae* secundaria a neumonía).

## **2.2 EPIDEMIOLOGÍA DE LA BACTERIEMIA POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORES DE BLEE: INCIDENCIA/FRECUENCIA EN EL TOTAL DE LAS BACTERIEMIAS. CAMBIOS EN INCIDENCIA/FRECUENCIA GLOBAL**

En cuanto a la incidencia de las bacteriemias por cualquier causa, en una cohorte estudiada en nuestro país por Rodríguez-Creixens *et al.* se observó una incidencia de bacteriemias significativas de 16 episodios por 1000 admisiones en 1985, evolucionando a 32 episodios por 100 admisiones en 2006, lo que supuso un incremento anual de un 8.3% (Rodríguez-Creixens 2008). Una tendencia similar se ha observado en Europa y EEUU. En EEUU la incidencia de la bacteriemia en la población general se ha incrementado en un 8.7% anual, pasando de 83 a 240 episodios por cada 100.000 habitantes entre los años 1979 y 2000 (Martin 2003). Este aumento de incidencia se ha relacionado con un envejecimiento de la población, un mayor uso de procedimientos invasivos, el aumento de la población inmunodeprimida, la epidemia del VIH, la automatización en los hemocultivos y el incremento de las resistencias antimicrobianas (Rodríguez-Creixens 2008).

Cuando estudiamos en concreto los procesos bacteriémicos por enterobacterias productoras de BLEE, podemos afirmar que son muy frecuentes en la actualidad, fundamentalmente los producidos por *E. coli* productor de enzimas de la familia CTX-M. Aunque se han realizado distintos trabajos epidemiológicos para estas infecciones (Borer 2002, Du 2002, Kim 2002, Schiappa 1996, Wong-Beringer 2002, Rodríguez-Baño 2010 CID, Rodríguez-Baño 2010 JCM), existen diferencias importantes en la epidemiología en función de la localización geográfica y en los criterios de inclusión de casos.

En algunos trabajos sobre bacteriemias productoras de BLEE en Turquía, China, Corea y el Reino Unido (Bin 2006, Kang 2008, Melzer 2007, Metan 2005), los orígenes más frecuentes de las infecciones bacteriémicas fueron urinario, biliar y desconocido; la mortalidad cruda varió entre el 0 y el 61%, un rango muy amplio debido a las diferencias metodológicas de los estudios y poblaciones estudiadas. Desde la perspectiva de la totalidad de las bacteriemias, un estudio multicéntrico realizado en Andalucía entre 2006 y 2007 mostró que, entre las bacteriemias por *E. coli*, las cepas productoras de BLEE fueron el 19% de las nosocomiales, el 8% de las relacionadas con los cuidados sanitarios y el 9% de las estrictamente comunitarias causadas por *E. coli* (Rodríguez-Baño 2010). En este mismo estudio, entre las bacteriemias por *Klebsiella* spp., las cepas productoras de BLEE fueron el 8% de las nosocomiales, el 8% de las relacionadas con los cuidados sanitarios y el 8% de las estrictamente comunitarias causadas por especies de *Klebsiella*.

En un estudio de cohortes (Rodríguez-Baño Dec 2006, CID) realizado en nuestra Área Hospitalaria en 2006, el 8.8% de los episodios de bacteriemia por *E. coli* fueron causados por aislados productores de BLEE (12.9% en los episodios de adquisición nosocomial y el 6.5% de las bacteriemias comunitarias por *E. coli*).

### **2.3 LUGAR DE ADQUISICIÓN Y ORÍGENES. FRECUENCIAS Y ETIOLOGÍAS**

Dadas las diferencias epidemiológicas existentes entre *E. coli* y *K. pneumoniae* (mayor porcentaje de infecciones comunitarias y en pacientes con menor gravedad basal en los primeros, diferencias en los focos de bacteriemia más frecuentes, diferencias en la sensibilidad a antimicrobianos no  $\beta$ -lactámicos, diferentes tipos de BLEE) parece necesario evaluarlas de manera diferenciada.

En cuanto a las características clínicas y epidemiológicas de las bacteriemias por Kp-BLEE, son con más frecuencia típicamente nosocomiales;

los orígenes más frecuentes son: desconocido (28%-54%), respiratorio (8%-41%), intraabdominal (6%-38%), catéter vascular (11%-36%) y urinario (18%- 29%). La frecuencia de presencia de shock séptico oscila entre el 14% y el 27%, y la mortalidad cruda entre el 17% y el 52% (Paterson 2004, Kang CI. 2004, Peña C. 2001, Kim BN. 2002, Marra 2006, Tumbarello 2006). En Unidades Neonatales, las bacteriemias por este microorganismo son sobre todo primarias (es decir, de origen desconocido o en catéter vascular) (Rodríguez-Baño Expert Rev Anti Infect Ther 2008). Los principales factores de riesgo son la duración de la hospitalización, la estancia en UCI, los procedimientos invasivos, el uso previo de antimicrobianos, y particularmente cefalosporinas (Paterson 2004, Tumbarello 2006, Kang CI. 2004).

Aunque las bacteriemias de origen urinario por enterobacterias productoras de BLEE (sobre todo. *E. coli*) son frecuentes en la actualidad, los procedimientos y cuidados sanitarios (ambulatorios o nosocomiales) incrementan el riesgo de sufrirlas (Rodríguez-Baño 2010 CID, Ortega 2009, Kim BN. 2002, Ho 2001, Park 2011, Kang CI. 2012, Kang CI. 2010). Los datos de un estudio publicado por nuestro grupo de trabajo (Rodríguez-Baño 2010 CID) muestran que EC-BLEE es una causa importante de bacteriemia de adquisición comunitaria por *E. coli*. Aunque la frecuencia de ocurrencia (~7% de todos los casos de bacteriemias comunitarias causadas por *E. coli* en los centros participantes) puede no parecer alarmante, a esta cifra se ha llegado en sólo 4-5 años después de la aparición del patógeno en España (Romero 2005) y recalca el hecho de que las bacteriemias comunitarias pueden ser causada por microorganismos multirresistentes. El predominio de las enzimas CTX-M y de los aislados sin relación clonal coinciden con características de los aislados de adquisición comunitaria existentes en España durante el período de estudio (Diestra 2008). En dicho estudio, los orígenes de las bacteriemias comunitarias por EC-BLEE fueron los esperados para *E. coli*, siendo predominantes las infecciones del tracto urinario, seguidas de las infecciones intra-abdominales (particularmente infecciones de las vías biliares).



Posteriormente, se comunicaron algunos otros estudios realizados en Turquía, China, Corea y el Reino Unido (Metan 2005, Bin C. 2006, Kang CI. 2008, Melzer 2007), que incluyeron sólo casos comunitarios (Kang CI. 2008), sólo nosocomiales (Bin C. 2006) o ambos (Melzer 2007). Los orígenes más frecuentes de las bacteriemias fueron urinario, biliar y desconocido, y la mortalidad cruda varió entre el 0 y el 61%, reflejando las diferencias en poblaciones y metodología de los estudios.

## **2.4 REPERCUSIÓN CLÍNICA DE LA PRODUCCIÓN DE BLEE. MORTALIDAD GLOBAL**

Si el pronóstico de las infecciones por microorganismos productores de BLEE es peor en comparación con los organismos no productores de BLEE es todavía un tema de debate, ya que los estudios existentes que han analizado la asociación entre la producción de BLEE y la mortalidad, o la duración de la estancia hospitalaria, han mostrado resultados contradictorios. No obstante, la interpretación de estos estudios debe tener en cuenta diversas cuestiones metodológicas. En primer lugar, los estudios deben ser diseñados con la potencia suficiente para ser capaz de detectar diferencias.

En segundo lugar, se debe tener en cuenta el sesgo de confusión; Como las variables que aumentan el riesgo de infección por microorganismos productores de BLEE también pueden estar asociados con el resultado (por ejemplo, gravedad de la enfermedad subyacente y tipo de fuente de infección), el efecto de tales variables necesita ser controlado en el diseño y / o en el análisis.

En cualquier caso, si una infección debida a un organismo productor de BLEE se asocia con un peor resultado que cuando está causado por cepas no productoras e BLEE, debe estar relacionado con aumento de la virulencia de las cepas, y / o con una mayor frecuencia en la administración de un tratamiento empírico

inapropiado (y, por ende, en un retraso en administrar el tratamiento apropiado).

Con respecto a la virulencia, varios autores han investigado los determinantes de virulencia según las diferentes cepas de EC-BLEE. Así, Lavigne *et al.* investigaron la capacidad de aniquilación de *E. coli* productor de CTX-M en un modelo de nematodos y encontraron que los productores de BLEE en el estudio producían menos mortalidad que cepas no productoras de BLEE, y éstas estaban correlacionadas con la presencia de varios factores de virulencia (Lavigne 2006). Sin embargo, las cepas de *E. coli* ST131 productores de CTX-M-15 pertenecen a grupos filogenéticos virulentos (principalmente B2) y expresan numerosos determinantes de virulencia (Karisik 2008).

En lo referente al tratamiento inapropiado, a priori parece intuitivo que la probabilidad de prescribir un antimicrobiano apropiado como tratamiento empírico es menor si el microorganismo es multiresistente. En un metaanálisis de los diferentes estudios publicados evaluando el pronóstico de las bacteriemias por enterobacterias productoras y no productoras de BLEE, Schwaber y Carmeli encontraron que los organismos productores de BLEE se asociaban con un mayor retraso en administrar el tratamiento efectivo (Riesgo Relativo [RR]: 5.56; Intervalo de confianza del 95% [IC]:2.95–10.51) (Schwaber 2007). En ciertas situaciones (orígenes de infección de alto riesgo, pacientes debilitados e infecciones que se presentan con sepsis grave o shock séptico), un retraso en la terapia antimicrobiana adecuada ciertamente influye en el resultado. Sin embargo, la importancia de este retraso es más difícil de detectar en los estudios donde se analizan principalmente infecciones de bajo riesgo (por ejemplo, infecciones del tracto urinario sin sepsis grave).

Hasta la fecha, el meta-análisis publicado más significativo muestra que las bacteriemias causadas por cepas productoras de BLEE se asocian significativamente con una mayor mortalidad (riesgo relativo (RR): 1.85; IC del 95%: 1.39 a 32.47) (Schwaber 2007). Sin embargo, los autores mencionan que

sólo uno de los 16 estudios usados en el meta-análisis mostró un RR ajustado; en este estudio, después de incluir diferentes variables en el análisis multivariante, la producción de BLEE se asoció significativamente con la mortalidad (OR = 3.6; IC del 95%: 1.4-9.5;  $p = 0.008$ ), con una mayor duración de la estancia hospitalaria y con un mayor coste (Schwaber 2006). Un meta-análisis posterior mostró las debilidades de muchos de los estudios que han analizado esa cuestión (Rottier 2012).

Así, podemos concluir que las infecciones invasivas causadas por organismos productores de BLEE tienden a estar asociados con un peor pronóstico en comparación con los no productores de BLEE, mediado sobre todo por un mayor retraso en la administración de tratamiento activo; sin embargo, esto requiere confirmación por estudios adecuadamente controlados y con potencia suficiente.

## **2.5 TRATAMIENTO DE SOPORTE Y CONTROL DEL FOCO**

El tratamiento de soporte precoz junto con el tratamiento antimicrobiano apropiado aumenta la supervivencia de los pacientes con sepsis grave o shock séptico. Las medidas recomendadas para el tratamiento de soporte de estos pacientes han sido consensuadas por varias sociedades científicas internacionales (Dellinger 2004). Las recomendaciones se basan en la reposición de fluidos, uso de vasopresores, control de glucemias, administración de hemoderivados y uso de corticoides. Las principales recomendaciones se recogen en la tabla siguiente (Tabla 3). Se recomienda establecer protocolos de actuación que aseguren que los pacientes con sepsis grave o shock séptico son atendidos como emergencias médicas comparables al dolor precordial.

**Tabla 3. Recomendaciones para el tratamiento de soporte de los pacientes con sospecha de bacteriemia y con sepsis grave o shock séptico**

Recomendación	Comentarios
<b>Reposición de fluidos</b>	500-1.000 ml de cristaloides o 300-500 ml de fluidos de coloides en 30 min. Repetir si no respuesta de la presión arterial y de la diuresis
<b>Vasopresores</b>	Iniciar si la reposición de fluidos ha fracasado, con dopamina o con noradrenalina. Considerar vasopresina en shock refractarios a los vasopresores previos y dobutamina en pacientes con bajo gasto cardíaco
<b>Control de la glucemia</b>	Insulina en perfusión continua para la glucemia mantener la glucemia por debajo de 150 mg/dl
<b>Administración de hemoderivados</b>	Transfusión de concentrados de hematíes hemoderivados cuando la hemoglobina sea inferior a 7 g/dl en ausencia de enfermedad coronaria o de hemorragia aguda
	Transfusión de plaquetas cuando el recuento sea inferior a 5.000/ $\mu$ l, y en caso de sangrado cuando el recuento sea inferior a 30.000/ $\mu$ l
<b>Corticoides</b>	200-300 mg/día de hidrocortisona en 3-4 dosis durante un máximo de 7 días en pacientes con shock séptico que requieran tratamiento con vasopresores

### **3. EL PROBLEMA DEL TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO DE LAS INFECCIONES POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BLEE**

#### **3.1 ACTIVIDAD IN VITRO DE LOS DISTINTOS ANTIMICROBIANOS**

Las opciones terapéuticas para tratar estas infecciones son muy limitadas puesto que, como hemos visto, se trata con frecuencia de bacterias multirresistentes.

En la actualidad el CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) y EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) recomiendan en sus recomendaciones que las cepas productoras de BLEE sean informadas en cuanto a su sensibilidad tal como resulten tras aplicar los puntos de corte establecidos en sus guías. Anteriormente se recomendaba informarlas siempre como resistentes a los oxi-imino- $\beta$ -lactámicos en el momento que se detectase una enzima de este tipo, independientemente de los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) hallados (CLSI 2011, EUCAST).

Por otra parte hay que tener en cuenta que las tasas de resistencia a los diferentes antimicrobianos varían entre países, entre ciudades e incluso entre hospitales, por lo que las guías de tratamiento empírico deben elaborarse en función de estas características para cada zona geográfica. Así en el estudio SMART Europa 2008 (Hawser 2011), la enterobacteria más frecuentemente aislada fue *E. coli*, con una sensibilidad entre los antibióticos estudiados que osciló entre el 43.3% para ampicilina/sulbactam y el 100% para imipenem. En cambio, en los aislados de EC-BLEE, se redujo en gran medida la sensibilidad de la mayoría de los agentes, con la excepción de ertapenem y imipenem (99.4% y 100%, respectivamente). Así, la sensibilidad a amikacina se redujo del 92.6% para todos aislados de *E. coli* al 53.8% entre los productores de BLEE. Patrones similares se observaron para piperacilina/tazobactam y levofloxacino. La sensibilidad para todas las cefalosporinas se redujo del 85-86% (para todos los

aislados de *E. coli*) al 2.3-7.5% en los productores de BLEE. *K. pneumoniae* fue la segunda especie más frecuentemente aislada, con sensibilidades que oscilaban desde el 57.2% (ampicilina/sulbactam) a 89.9%, 93.4% y 95.3% para amikacina, imipenem y ertapenem, respectivamente. En cambio, contra los aislados de Kp-BLEE, todos los agentes mostraron una sensibilidad más reducida. Así, los antimicrobianos más afectados fueron las cefalosporinas (sensibles entre el 1.8 al 8.8%), ampicilina/sulbactam (5.3%), piperacilina/tazobactam (26.3%), levofloxacin (42.1%) y amikacina (68.4%). Los agentes más activos contra *K. pneumonia* productora de BLEE fueron ertapenem e imipenem, con unas sensibilidades en porcentajes de 84.2% y 89.5%, respectivamente. En conclusion, con las excepciones del ertapenem e imipenem, todos los demás antimicrobianos del estudio tenían porcentajes de sensibilidad significativamente inferiores en *E. coli* y *K. pneumoniae* productores de BLEE que en los no BLEE.

En España, en el segundo estudio nacional GEIH-BLEE realizado en 2006 (Díaz 2009), el 88 y el 100% de las cepas *E. coli* aisladas fueron sensibles a la cefoxitina y cefotetan, respectivamente. Todos los aislados fueron sensibles a imipenem, meropenem, ertapenem, y tigeciclina. La combinaciones de  $\beta$ -lactámicos/inhibidores de  $\beta$ -lactamasas (BL/IBL) mostraron una actividad del 88.6% en el caso de piperacilina/tazobactam y del 69.3% en el caso de amoxicilina/ácido clavulánico (69.3% cepas sensibles). Los porcentajes de sensibilidad para los otros antimicrobianos evaluados fueron: amikacina, 98%; gentamicina, 78.3%; tobramicina, 76%; ciprofloxacino, 29.1%; y cotrimoxazol, 36.1%. En este caso, todas las cepas se consideraron resistentes a la cefotaxima, ceftazidima, cefpodoxima, cefepima y aztreonam por utilizarse las recomendaciones antiguas de CLSI.

En las cepas de *K. pneumoniae* de este estudio (Ruiz de Alegría 2011), el 0.6% de los aislados fueron sensibles a cefotaxima, el 7.4% a ceftazidima, el 8.0% a cefepima y el 6.8% a aztreonam; los carbapenemes fueron muy activos, y sólo el 1.8% de las cepas fue resistentes a ertapenem. Amikacina y tigeciclina también presentaron buena actividad in vitro contra los aislados ensayados. Las cepas de

*K. pneumoniae* fueron más resistentes que los aislados analizados en el primer estudio multicéntrico en el año 2000 a amoxicilina/ácido clavulánico, piperacilina/tazobactam, ciprofloxacino y cotrimoxazol.

Como conclusión, cabe indicar que en general la sensibilidad de las enterobacterias productoras de BLEE a los BL/IBL es heterogénea según la especie y la localización geográfica. Los carbapenemes son los fármacos más activos, junto con tigeciclina y amikacina. La gran mayoría de las cepas son resistentes a quinolonas, cotrimoxazol y cefalosporinas. Respecto a *E. coli*, que es el principal microorganismo implicado en las infecciones de adquisición comunitaria con origen urinario o intraabdominal, en general más del 70% de los productores de BLEE son sensibles a piperacilina/tazobactam (Chen 2011; Hawser 2011; Hoban 2010; Díaz 2010; Ruiz de Alegría 2011; Hawser 2013) y en algunas zonas, como España o China, más del 60% son sensibles a amoxicilina/ácido clavulánico (Rodríguez-Baño 2012, CID; Hawser 2013). Sin embargo, este no es el caso en las zonas donde las cepas de *E. coli* productoras de BLEE producen principalmente la enzima CTX-M-15, dado que muchas de esas cepas también producen OXA-1 (Livermore 2005), que no se inhibe por los IBL. Además, la sensibilidad a piperacilina/tazobactam o amoxicilina/ácido clavulánico es menor en el caso de Kp-BLEE (alrededor del 25% para el piperacilina/tazobactam y <10% de amoxicilina/ácido clavulánico [Chen 2011; Hawser 2011; Hoban 2010; Díaz 2010; Ruiz de Alegría 2011; Hawser 2013]).

### **3.2 IMPORTANCIA DEL TRATAMIENTO EMPÍRICO Y DIRIGIDO**

La influencia en el pronóstico de un tratamiento adecuado ha sido descrita previamente en las bacteriemias en general, sobre todo en cohortes seleccionadas de pacientes con bacteriemia nosocomial o ingresados en UCI, encontrándose en algunos estudios que la mortalidad es de hasta siete veces más en los pacientes con tratamiento empírico inadecuado (Ibrahim 2000, Garnacho-Montero 2003, Retamar 2012). Harbarth *et al.*, en un estudio multicéntrico de pacientes con sepsis grave, concluyeron que el tratamiento

antimicrobiano empírico estaba relacionado con una mayor mortalidad pero que esta asociación pudiera no mantenerse en el caso de pacientes no graves (Harbarth 2003).

Esta relación entre un tratamiento empírico inadecuado y una mayor mortalidad también ha sido continuamente analizada en las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE con conclusiones dispares:

Peralta *et al.* (Peralta 2012) en su estudio de 387 bacteriemias por EC-BLEE encontró que un tratamiento empírico adecuado era protector de mortalidad únicamente en el grupo con sepsis grave o shock (OR: 0.42, IC del 95%: 0.19-0.92,  $p=0.03$ ), pero no en el grupo de los pacientes que no presentaban sepsis grave o shock séptico. Tumbarello *et al.* (Tumbarello 2007) también analizaron 186 bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE concluyendo que tras el análisis multivariante sólo el tratamiento empírico inadecuado y un origen de la infección desconocido estaban significativamente asociadas con la mortalidad a 21 días. También se ha observado esta relación entre tratamiento inadecuado y mortalidad cuando el origen de la infección era distinto al urinario (Peña 2008). El tratamiento inadecuado también fue factor de riesgo independiente de mortalidad en otros estudios publicados de bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE (Ortega 2009, Hyle 2005).

Por otro lado, en el estudio de Rodríguez-Baño *et al.* (Rodríguez-Baño 2010) donde se analizaban los factores de riesgo de mortalidad a 14 y 30 días en las bacteriemias comunitarias causadas por EC-BLEE, se concluía que la producción de BLEE no se asociaba de por sí a mayor mortalidad, sino que era el tratamiento empírico inadecuado la variable relevante, que lógicamente era más frecuente en el caso de los BLEE. Sin embargo, en un reciente estudio publicado (Frakking 2013) de 232 bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE en diversos hospitales holandeses se concluía que, después de ajustar por las variables confusoras y de estratificar en pacientes con origen urinario y no urinario de la bacteriemia, no existía asociación estadísticamente significativa entre la



mortalidad a 30 días y el tratamiento inadecuado, aunque sí una posible tendencia. Esta asociación entre el tratamiento empírico inadecuado y una mayor mortalidad tampoco fue significativamente estadística en otros estudios publicados en bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE (Kang 2012, Chaubey 2010).

Estas diferencias entre los distintos estudios publicados la recoge también Trecarichi en su revisión (Trecarichi 2012): entre los 28 estudios sobre factores pronósticos seleccionados para esta revisión, el tratamiento inicial antimicrobiano se había evaluado (e incluido en los modelos logísticos) en 23 de ellos; de estos, este factor se asoció de forma independiente con la mortalidad en nueve estudios, con OR que oscilaban entre 2.1 a 14. En los otros 12 estudios, se incluyó en el análisis el tratamiento antimicrobiano inapropiado al inicio y no se encontró ninguna asociación con la mortalidad. Sin embargo, el pequeño tamaño muestral de la mayor parte de estos estudios podría explicar en gran parte estos resultados. En este sentido cabe explicar que determinadas circunstancias no bien medidas, como la precocidad del tratamiento empírico, la acción de determinados fármacos en determinadas infecciones en las que alcanzan altas concentraciones aún siendo el patógeno resistente, o el drenaje rápido del foco de infección son variables no siempre bien reflejadas en los estudios.

Dos estudios han evaluado los factores de riesgo para un retraso en el tratamiento antimicrobiano apropiado inicial en pacientes con bacteriemias causadas por enterobacterias (Tumbarello 2008, Schwaber 2006): Schwaber *et al.* encontraron que la producción de BLEE fue el único predictor significativo de retraso en la terapia apropiada; Tumbarello *et al.* determinaron, en una cohorte de pacientes con bacteriemia por EC-BLEE, que un origen de la bacteriemia desconocido (OR 4.86), coresistencia de los aislados a más de tres antimicrobianos (OR 3.73), una hospitalización en los 12 meses anteriores a la aparición de la bacteriemia (OR 3.33) y haberse administrado un tratamiento antimicrobiano en los 3 meses anteriores al inicio de la bacteriemia (OR 2.65)

fueron factores de riesgo independientes para administrar un tratamiento antimicrobiano inadecuado.

En conclusión, bajo determinados factores (orígenes de la infección de alto riesgo, pacientes con alta comorbilidad e infecciones que se presentan con sepsis grave o shock séptico), un retraso en la terapia antimicrobiana adecuada parece que ciertamente tiene influencia en el resultado clínico. Sin embargo, es más difícil valorar la importancia de un retraso del tratamiento apropiado en los estudios donde se incluyan infecciones de bajo riesgo (por ejemplo, infecciones del tracto urinario sin sepsis grave).

### **3.3 ESTRATEGIAS DE TRATAMIENTO EMPÍRICO (SEGÚN ADQUISICIÓN, FACTORES DE RIESGO Y EPIDEMIOLOGÍA LOCAL)**

Las decisiones terapéuticas para las infecciones causadas por microorganismos productores de BLEE son complejas, ya deben tenerse en cuenta la epidemiología local (por ejemplo, la prevalencia local de cepas productoras de BLEE y de resistencia a diferentes agentes en estas), los posibles factores de riesgo individuales para BLEE, la gravedad y origen de la infección, las características del paciente y el impacto ecológico de los diferentes antimicrobianos.

Se podría simplemente plantear el uso empírico de carbapenemes en infecciones invasivas en las que puedan estar implicados microorganismos productores de BLEE; asimismo, se puede plantear el tratamiento dirigido con estos fármacos para todas estas infecciones. Sin embargo, esta práctica conllevaría a un consumo excesivo de estos fármacos, como de hecho está ocurriendo; la situación epidemiológica actual, de emergencia y rápida diseminación de enterobacterias productoras de carbapenemasas, debe suponer un argumento suficiente para actuar de otra manera.

Es por tanto, imprescindible conocer la epidemiología local: la frecuencia con que ocurren estas infecciones, y las circunstancias en que son más frecuentes. La segunda consideración es clínica. Las decisiones sobre tratamientos empíricos deben realizarse, además, considerando la gravedad del cuadro infeccioso, el síndrome concreto y las características del paciente. Finalmente, ante la existencia de varias opciones, debe considerarse el impacto de nuestras decisiones en la selección y diseminación de resistencias.

Así, en base a los datos disponibles, y a la espera de posteriores estudios que confirmen el posible uso de las combinaciones de BL/IBLI (Rodríguez-Baño 2012, Vardakas 2012) o de otros antimicrobianos como alternativa a los carbapenemes, hasta la fecha se han planteado varias estrategias en nuestro medio para evitar un uso excesivo de los carbapenemes, según el tipo de adquisición:

### 3.3.1 Sepsis de presentación comunitaria (no nosocomial)

En nuestro medio, entre el 8.8 y el 13% de los aislamientos de *E. coli* causantes de infección son productores de BLEE (Rodríguez-Baño 2006 CID, Rodríguez-Baño 2010). Dado que aproximadamente la mitad de los casos se aíslan de pacientes no ingresados (Díaz 2010), es necesario considerar estos microorganismos para el tratamiento empírico de la sepsis comunitaria de origen urinario, intraabdominal y en los casos de sepsis sin origen evidente. En base a los datos de estudios de factores de riesgo y modelos predictivos, la reciente Guía de Tratamiento de Infecciones por Enterobacterias Multirresistentes de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (Rodríguez-Baño 2015) recomienda evaluar los factores de riesgo individuales siguientes: uso reciente de cefalosporinas o quinolonas, hospitalización reciente ó traslado desde otro centro sanitario (incuyendo centros de crónicos y residencias de ancianos), índice de Charlson >3 y edad 70 años. Se aconseja cobertura frente a productores de BLEE en pacientes con uno solo de esos

factores si se presentan con sepsis grave ó shock, y con dos o más factores en caso contrario.

En estos casos parece aconsejable (sobre la base de las consideraciones previas) el uso de un carbapenem; sin embargo, podemos plantearnos algunas estrategias para optimizar mejor el uso de estos fármacos:

1. Establecer mecanismos de control para asegurar un adecuado uso de los carbapenemes en estas situaciones, de manera que sólo se indiquen en los casos indicados.
2. Plantear alternativas a los carbapenemes (ver después).
3. Protocolización de la desescalada, de manera que todas las indicaciones empíricas de carbapenemes sean revisadas una vez se disponga de los datos de sensibilidad.

### 3.3.2 Sepsis nosocomial

En estos casos, las recomendaciones dependen de manera absoluta de la epidemiología de la unidad y el hospital concreto, y de la necesidad de cubrir otros bacilos gramnegativos (como *P. aeruginosa* o *Acinetobacter baumannii*). En unidades con brotes epidémicos de enterobacterias productoras de BLEE, y en pacientes que hayan recibido previamente cefalosporinas o quinolonas, debe considerarse utilizar empíricamente cobertura frente a productores de BLEE (Rodríguez-Baño 2015), habitualmente con un carbapenem (imipenem ó meropenem, dado que, en general, es necesario cubrir *P. aeruginosa*).

Adicionalmente, pueden plantearse estrategias similares a las descritas en la sepsis comunitaria para reducir el consumo de carbapenemes.

### 3.3.3 Conclusiones

La frecuencia actual de infecciones causadas por enterobacterias productoras de BLEE ha obligado a revisar los tratamientos empíricos de varios síndromes infecciosos. Es imprescindible conocer la situación epidemiológica local de estos microorganismos para establecer recomendaciones, valorar la gravedad de cada caso y las características de los pacientes, e introducir mecanismos de control para asegurar el uso adecuado de los antimicrobianos introducidos como consecuencia de este problema.

## **3.4 CARBAPENEMES COMO FÁRMACOS DE ELECCIÓN FRENTE A PRODUCTORES DE BLEE.**

Las carbapenemes son consideradas las drogas de elección para las infecciones causadas por enterobacterias productoras de BLEE. Esto se debe a varias razones: (1) No se afectan por este mecanismo de resistencia, por lo que las cepas son uniformemente sensibles a no ser que ocurran otros mecanismos de resistencia. (2) Se han asociado a una menor tasa de fracaso y a mejores resultados que otras opciones, sobre todo cefalosporinas y quinolonas, en estudios observacionales publicados (Endimiani 2004; Bassetti 2007; Rodríguez-Baño 2008 Exp.rev., Tamma 2015). Así, un metanálisis publicado recientemente de estudios observacionales encontró que la mortalidad era más baja en pacientes que habían recibido tratamiento empírico o definitivo con carbapenem en comparación con otros antibióticos, incluyendo cefalosporinas, fluorquinolonas, aminoglucósidos, con la excepción de BLBLI. (Vardakas 2012).

En la mayoría de los estudios el carbapenem analizado es imipenem o meropenem. Hay algunos recientes estudios con ertapenem (Collins 2012; Wu 2012), que podría considerarse preferible a otros carbapenemes en infecciones comunitarias potencialmente causadas por BLEE en las que no es necesario cubrir *P. aeruginosa*, para evitar presión selectiva sobre este microorganismo o

sobre *A. baumannii* que presentan el resto de carbapenemes (Nicolau 2012). Frei *et al.* propusieron un punto de corte farmacocinético/farmacodinámico (PK/PD) para considerar a las enterobacterias como sensibles a ertapenem de  $\leq 0.25$  mg/L (Frei 2008); el punto de corte según EUCAST es actualmente de  $\leq 0.5$  mg/L [EUCAST 2015]. En cualquier caso, en un estudio multicéntrico en España con un alto número de aislados, la CMI<sub>90</sub> para cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productores de BLEE fue 0.125 y 0.25 mg/l, respectivamente (Hernández 2006).

### 3.5 ALTERNATIVAS A LOS CARBAPENEMES

#### 3.5.1 Combinaciones de BL/BLI

Como se explicó, las BLEE son característicamente inhibidas por los inhibidores de  $\beta$ -lactamasa. Sin embargo, han existido dudas acerca de la utilidad de estos fármacos en infecciones serias por productores de BLEE. Las cepas productoras de BLEE pueden ser resistentes por la existencia de otros mecanismos de resistencia (por ejemplo, co-producción de  $\beta$ -lactamasas resistentes a los inhibidores, como enzimas plasmídicas tipo AmpC u OXA-1), por la hiperproducción de las  $\beta$ -lactamasas y/o cambios en la permeabilidad de membrana externa). En algunas áreas, el porcentaje de resistencia de los aislados a BL/IBL es elevado, particularmente entre los aislados de *Klebsiella* spp. (Paterson 2005, Pérez 2012). Debido a esto y a la buena actividad de los carbapenemes, se había prestado poca atención a estos fármacos para el tratamiento de las BLEE. De hecho, muchos laboratorios de Microbiología informaban las cepas productoras de BLEE como resistentes a amoxicilina/ácido clavulánico y piperacilina/tazobactam independientemente de la CMI que presentaran, quizás por una interpretación errónea de las recomendaciones del CLSI (Conejo 2008). Peterson recopiló en 2008 (Peterson 2008) la experiencia clínica publicada del tratamiento de enterobacterias productoras de BLEE con piperacilina/tazobactam, concluyendo que podría ser una opción alternativa.

Posteriormente, un estudio pos-hoc de varias cohortes prospectivas realizado por la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI) comparó de forma observacional la mortalidad y estancia hospitalaria de los pacientes con bacteriemia por EC-BLEE tratados bien de forma empírica o dirigida con un BL/IBL o un carbapenem, siempre que las cepas fueran sensibles al antibiótico usado (Rodríguez-Baño 2012). Se aplicaron criterios de selección estrictos y se realizó un control de sesgos mediante uso de índice de propensión (*propensity score*) y análisis multivariantes; los resultados sugirieron que amoxicilina/ácido clavulánico y piperacilina/tazobactam son una alternativa a los carbapenemes para tratar a los pacientes con bacterimias por este microorganismo. Una de las principales limitaciones del estudio es que, aunque se controló por el origen de infección, más de la mitad de los pacientes tenían un origen urinario ó biliar de la misma.

En el meta-análisis recientemente publicado de estudios observacionales al que hemos aludido con anterioridad (Vardakas 2012) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en mortalidad entre los tratados con un carbapenem o un BL/IBL, tanto en el tratamiento definitivo (RR 0.52, 95% 0.23–1.13) como en el empírico (RR 0.91, 95% CI 0.66–1.25). Sin embargo es cierto la mayoría de estudios de ese meta-análisis son muy limitados, lo que a su vez limita las conclusiones del mismo.

### 3.5.2 Fluoroquinolonas:

La resistencia a fluoroquinolonas es muy frecuente entre los productores de BLEE, sobre todo en algunas series recientes de *E. coli* (Pitout 2005, Pitout 2004, Rodríguez-Baño 2004 JCM), lo que impide el uso empírico de estos fármacos. En un estudio, 8 de los 16 pacientes con bacteriemia por enterobacterias productoras de BLEE que fueron tratados con ciprofloxacino fallecieron. En todos estos pacientes la CMI de ciprofloxacino fue entre 0.5-1 mg/L, sugiriendo que en microorganismos con CMI en el límite se debería optar por otras opciones

(Tumbarello 2007). Otro estudio había encontrado peores resultados con el uso de fluoroquinolonas en comparación con carbapenemes (Endimiani 2004), lo que podría deberse al hecho de que la CMI en aislados sensibles es con frecuencia más alta que el punto de corte farmacocinético (FK) / farmacodinámico (FD) (Frei 2008). Igualmente, en el reciente metanálisis de Vardakas, (Vardakas 2012) las quinolonas se asociaron a un incremento de la mortalidad comparado con los carbapenemes en el tratamiento empírico (pero no en el tratamiento definitivo). Sin embargo, parecería razonable tratar con quinolonas cepas sensibles que causen infecciones del tracto urinario, aunque no existen datos específicos sobre su eficacia.

### 3.5.3 Cefalosporinas:

La actividad hidrolítica de los BLEE contra cefalosporinas es heterogénea: mientras las cepas productoras de BLEE tipo TEM y SHV usualmente muestran una CMI muy elevada para ceftazidima y cefepima pero no para cefotaxima, lo contrario ocurre con las productoras de enzimas de tipo CTX-M, con algunas excepciones.

Inicialmente se observó que los pacientes tratados con cefalosporinas mostraban un peor pronóstico incluso cuando la CMI estaba dentro del rango entonces considerado como sensible conforme a los antiguos puntos de corte (Paterson 2001 JCM). En 2010, CLSI y EUCAST modificaron sus recomendaciones en dos aspectos: Por un lado, se bajaron muy significativamente los puntos de corte para cefalosporinas en enterobacterias (los aislados que mostraban una CMI  $\leq 1$  mg/L son ahora considerados sensibles de acuerdo con EUCAST, mientras según CLSI, el punto de corte es  $\leq 1$  para cefotaxima,  $\leq 4$  para ceftazidima y  $\leq 8$  para cefepime). Por otro lado, se recomienda informar la sensibilidad en base a la CMI, sin tener en cuenta la producción de BLEE. Esto significa que las cepas productoras de BLEE pueden ser consideradas como sensibles a cefalosporinas si la CMI está por debajo del punto de corte.



Dichas recomendaciones son controvertidas. De hecho implican que una importante proporción de cepas de *E. coli* productoras de BLEE particularmente CTX-M serían sensibles a ceftazidima (Rodríguez-Baño 2012 CMI). Un reciente estudio retrospectivo encontró que el uso de cefepime, particularmente cuando la CMI oscilaba entre 1 y 8 mg/L, se asoció de forma independiente con un incremento de la mortalidad en pacientes con bacteriemia productora de BLEE comparado con los carbapenemes (Lee 2013).

En la práctica, más de un 70% (Díaz 2010) de las bacteriemias causadas por *E. coli* productora de BLEE en nuestro medio se deben a cepas productoras de enzimas CTX-M (Rodríguez-Baño 2006 CID), algunas de las cuales son sensibles a ceftazidima con los criterios actuales; podría, por tanto, plantearse la utilización de este antimicrobiano empíricamente. Sin embargo, las cepas causantes del otro 30% producen enzimas SHV o TEM, que presentan valores elevados de CMI frente a ceftazidima, lo que imposibilita esta opción. Además, en las áreas donde las cepas productoras de CTX-M-15 son frecuentes, se añade el problema de que estas cepas presentan valores de CMI elevados también frente a ceftazidima (Oteo 2006). En el caso de *K. pneumoniae*, aunque la producción de enzimas CTX-M es poco frecuente, no sería lógico usar empíricamente cefotaxima, ya que al tratarse habitualmente de infecciones nosocomiales suele ser necesaria la cobertura empírica frente a *P. aeruginosa*.

En el caso de cefepima, aunque suele mostrar una actividad más uniforme frente a diversas cepas productores de BLEE, ésta no es suficiente para aconsejar su uso empírico (Rodríguez-Baño 2008 Exp. Rev), dado que un significativo porcentaje de los aislados puede tener una CMI mayor de 8 mg/L (52 y 22% de *E. coli* productor de TEM- y CTX-M, y entre un 0 y un 11% de *K. pneumoniae* productor de CTX-M y SHV, respectivamente, en un estudio multicéntrico realizado en España [GEIH-BLEE 2006]). También los aislados de *E. coli* productor de CTX-M-15 frecuentemente producen también OXA-1, el cual incrementa su capacidad hidrolítica frente al cefepime (Karisik 2006). Además, la

pérdida de expresión de las porinas incrementa la CMI de la mayoría de las cefalosporinas (Doménech-Sánchez 2000).

Por tanto, parece razonable no recomendar el uso de cefalosporinas como tratamiento empírico de infecciones graves potencialmente causadas por enterobacterias productoras de BLEE. De forma excepcional, podría ser una razonable opción continuar con cefalosporinas en pacientes con sepsis de origen urinario que han comenzado empíricamente con estos fármacos, están respondiendo clínicamente y la CMI es baja de acuerdo a los actuales puntos de corte.

#### 3.5.4 Otros antimicrobianos

La fosfomicina ha mostrado su utilidad para el tratamiento de infecciones del tracto urinario (ITUs) no complicadas (Falagas 2010). Presenta buena actividad in vitro contra *E. coli* y *K. pneumoniae* productores de BLEE (de Cueto 2006; Maraki 2009). Varios estudios observacionales han mostrado que la fosfomicina es efectiva para el tratamiento de ITUs bajas por enterobacterias productoras de BLEE (Rodríguez-Baño 2008 AIM; Senol 2010). Por tanto, parece una buena opción empírica para estas infecciones, que evitaría el uso de quinolonas y cefalosporinas, que se han mostrado como factores de riesgo para posibles nuevas infecciones en estos pacientes (Pullukcu 2007, Rodríguez-Baño 2004, Colodner 2004, Calbo 2006). No se dispone de experiencia alguna con el uso por vía intravenosa de este fármaco.

La tigeciclina presenta actividad in vitro frente a las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE (Morosini 2006), pero no frente a los microorganismos de la familia *Proteae* o *P. aeruginosa*. Está aprobado en varios países para el tratamiento de infecciones complicadas intraabdominales y de piel y partes blandas, por lo que es una alternativa en estas infecciones. Debido a sus bajos niveles en orina, no puede ser considerada como alternativa al tratamiento

de ITUs (Livermore 2005, Curcio 2008). La experiencia clínica en infecciones causadas por microorganismos productores de BLEE es escasa y debe evaluarse específicamente. Además, hay que tener cautela en su utilización en bacteriemias por *A. baumannii* (y posiblemente otros organismos) debido a los bajos niveles séricos de la tigeciclina (Peleg 2007), a pesar de haberse informado de algunas experiencias anecdóticas positivas (Cobo 2008).

La actividad de los aminoglucósidos varía según el área geográfica. Su eficacia y limitaciones para tratar las enterobacterias en general, se puede trasladar al tratamiento de las enterobacterias productoras de BLEE (Vidal 2007). Así, la toxicidad renal y ótica de los aminoglucósidos, su menor eficacia en algunos síndromes infecciosos y los resultados de metaanálisis que indican que el tratamiento combinado con aminoglucósidos no mejora el pronóstico de los pacientes con infección por bacilos gramnegativos, y sí aumenta la toxicidad, han relegado a estos antimicrobianos a un papel secundario (Cisneros-Herreros 2007), siendo su mayor utilidad potencial la infección urinaria. Su resistencia es, en general, más frecuente entre las cepas de *K. pneumoniae* que entre las de *E. coli*. En la situación actual causada por los microorganismos productores de BLEE y con los datos de sensibilidad comentados permitirían plantear como estrategia terapéutica empírica, en determinados pacientes de bajo riesgo de toxicidad renal, su uso en combinación con otro fármaco hasta conocer la sensibilidad del aislado, momento en que puede elegirse el tratamiento óptimo y mejor tolerado. Es necesario realizar estudios que evalúen la eficacia y seguridad de esta estrategia que exigiría, además, la revisión sistemática de las prescripciones realizadas para evitar toxicidad añadida. La amikacina es el antimicrobiano más recomendado para infecciones por BLEE de la familia por ser usualmente la más activa (Pitout 2008).

La nitrofurantoina está aprobado para el uso de infecciones urinarias no complicadas y es activo frente a la mayoría de BLEE. Un reciente estudio retrospectivo encontró un 69% de tasa de respuesta clínica en pacientes con ITU baja junto con EC-BLEE, por lo que podría ser una alternativa para dichas infecciones, aunque requiere un largo período de tratamiento.

La colistina es activa frente a microorganismos productores de BLEE, no obstante son pocos los estudios publicados respecto a su uso en infecciones por *E. coli*. Aunque la toxicidad renal de la colistina es menos frecuente que lo que se pensaba anteriormente (Li 2006), su empleo está reservado principalmente para los organismos resistentes a carbapenemes. La experiencia clínica publicada con este antimicrobiano se limita principalmente a estudios retrospectivos sobre las infecciones causadas *A. baumannii* y *P. aeruginosa* multiresistentes, pero también recientemente se está empleando en el tratamiento de *K. pneumoniae* y *E. coli* resistentes a carbapenemes debido a la producción de KPC o VIM  $\beta$ -lactamasas (Li 2006, Giamarellou 2006).

## **4. ANÁLISIS CRÍTICO DE LOS ESTUDIOS DE LA INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO EN EL PRONÓSTICO DE LAS BACTERIEMIAS EN GENERAL Y POR ENTEROBACTERIA BLEE EN PARTICULAR**

### **4.1 DISEÑO**

Es evidente que el mejor diseño para comparar la eficacia de dos antibióticos o grupos de antibióticos, como por ejemplo los BL/IBL y los carbapenemes, en el tratamiento de las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE, es el ensayo aleatorizado y controlado, a ser posible doble ciego. En Australia y Nueva Zelanda está actualmente en marcha un estudio que compara piperacilina/tazobactam con meropenem en el tratamiento de las bacteriemias por enterobacterias resistentes a cefalosporinas y sensibles a estos fármacos. Si el estudio consigue reunir el tamaño muestral adecuado, tardaremos al menos 3 años en disponer de sus resultados definitivos.

Mientras tanto se puede plantear obtener información útil mediante estudios observacionales bien diseñados y ejecutados. Esto supone todo un reto, dado que es necesario controlar los posibles sesgos de selección y clasificación, y la confusión (Bettioli 2014).

Para evitar sesgos de selección, la inclusión de casos consecutivos y no seleccionados por su accesibilidad es clave. Asimismo, en el caso de estudios multicéntricos, la inclusión de hospitales con los mismos criterios de realización de hemocultivos y con procedimientos microbiológicos de detección de cepas productoras de BLEE similares es también importante. Finalmente, debido a que en la vida real los cambios de antibióticos ocurren con frecuencia y no siempre en base a causas claramente justificables, la asignación a uno u otro antibiótico puede ser difícil. Para ello deben usarse criterios estrictos para incluir a los

pacientes en cuanto a si se asignan al tratamiento empírico o dirigido, y a qué antibiótico se asignan.

Respecto a los sesgos de clasificación o información, una adecuada definición de las variables explicativas y de resultado es muy relevante. Esto es además particularmente importante en estudios multicéntricos. La elección de variables resultado que sean suficientemente sensibles y específicas para medir el efecto que buscamos es todo un reto.

#### **4.2 COVARIABLES A CONSIDERAR: DEMOGRÁFICAS, ENFERMEDADES CRÓNICAS, GRAVEDAD DE LA PATOLOGÍA DE BASE, GRAVEDAD AGUDA, GRAVEDAD DEL SRIS, ORIGEN, ETIOLOGÍA**

Para poder analizar la influencia de un tipo de tratamiento antimicrobiano u otro en el pronóstico de las bacteriemias, es necesario analizar previamente las variables que, según la literatura publicada, están asociadas con dicho pronóstico (principalmente mortalidad), con objeto de tenerlas en cuenta en el posterior análisis estadístico (posibles variables confusoras en el modelo multivariante) a realizar. Estas variables pueden ser demográficas, de gravedad de patología de base, de gravedad del SRIS, o acerca del origen y de la etiología de la infección. Analicemos las más destacadas:

Respecto a la edad, cabe destacar que la mortalidad por bacteriemia en los ancianos es elevada. Hay variabilidad de unos estudios a otros, pero se estima una mortalidad cruda de un 14-38%. Los factores asociados a un peor pronóstico en este grupo incluyen un status mental alterado, shock, fallo multiorgánico y tratamiento inadecuado (Bearman 2005). Sin embargo, existe cierta controversia en considerar a la edad per sé factor pronóstico de la bacteriemia. En el estudio de Diekema *et al.*, la edad no alcanzó significación estadística asociada a la mortalidad (Diekema 2002). En cambio, Raymond *et al.*, describieron que la mortalidad atribuible a la bacteriemia en una cohorte de bacteriemias comunitarias, era del 7% en los menores de 70 años, del 25% en los de 70-90 y

del 50% en los mayores de 90 (Raymond 2006). Lee *et al.* estudiaron las características clínicas de las bacteriemias en función de grupos de edad (Lee 2007). Observaron que los ancianos presentaban menos signos de SRIS, lo que dificultaba el diagnóstico inicial, mayor riesgo de fallo multiorgánico y mayor proporción de infección del tracto urinario y respiratorio. Tras corregir considerando el género, la comorbilidad según Charlson (Charlson 1987) y la severidad clínica, la edad fue un factor de riesgo independiente de mortalidad a los 90 días.

La comorbilidad se ha definido como el conjunto de insuficiencias orgánicas crónicas, que de manera invariable alteran la expresión clínica de la enfermedad (Charlson 1987). Cabe pensar que para el mismo fenómeno agudo la respuesta general de cada uno de los pacientes será totalmente diferente, así como la gravedad y el pronóstico, ya que dependerán en última instancia de la reserva orgánica con la que cuenta cada sujeto. Esta afirmación, que parece tan obvia, en el caso de la bacteriemia sólo ha sido estudiada para un número no muy extenso de patologías como VIH, pacientes con cáncer y neutropénicos, pacientes con transplante de órgano sólido y hematopoyético, diabetes mellitas, cirrosis hepática, enfermedad pulmonar crónica e insuficiencia renal crónica.

La bacteriemia aún causa una elevada mortalidad (15-25%) entre pacientes neutropénicos a pesar de los tratamientos antibióticos.

Dada la variedad de patologías de base existentes, se han utilizado índices o clasificaciones pronósticas que miden de manera conjunta la probabilidad de muerte de los pacientes en base a su comorbilidad. La clasificación de McCabe y Jackson en enfermedades de base no fatales (no es esperable la muerte en 5 años), últimamente fatales (la muerte es esperable entre 3 meses y 5 años) y rápidamente fatales (la muerte es esperable en menos de 3 meses) se utilizó por estos autores en una serie de pacientes con bacteriemia por gramnegativos (McCabe 1962). Esta clasificación ha sido utilizada en numerosos estudios, y a pesar de su componente de subjetividad, se ha mostrado muy útil.

El índice de Charlson predice la mortalidad a un año para un paciente en función de las enfermedades de base para un total de veintidós comorbilidades (Charlson 1987). A cada una de ellas se le asigna una puntuación de uno, dos, tres o seis dependiendo del riesgo de fallecer asociado a cada comorbilidad. Después se suman las puntuaciones y se da una puntuación total que predice la mortalidad.

Además de la comorbilidad crónica, la gravedad aguda de la situación clínica al diagnóstico de la bacteriemia es un factor pronóstico importante. Una mayor gravedad clínica se ha asociado con estancias más prolongadas en el hospital y en la UCI, un mayor requerimiento de antibióticos y mayor incidencia de infección nosocomial (Martin 2003, Brun-Buisson 1996). En mucho de los estudios citados previamente la gravedad clínica se asociaba a un peor pronóstico. La puntuación de Pitt (Paterson 2004) se trata de un índice validado en pacientes con bacteriemia que predice la probabilidad de muerte en función de la situación de gravedad aguda del paciente. Se recoge la peor puntuación (más alta) durante el día de referencia y los 2 días previos de una serie de variables sencillas (temperatura, tensión arterial, ventilación mecánica, insuficiencia cardíaca y estado mental). Se ha mostrado predictor de mortalidad en varios estudios de bacteriemias por diferentes microorganismos (Rodríguez-Baño 2003, Paterson 2004).

Rhee et al. compararon la eficacia del índice de Pitt, de Charlson y del APACHE II como predictores de mortalidad por sepsis en pacientes ingresados en UCI. Encontraron que la puntuación de Pitt se correlacionaba con el APACHE (coeficiente de correlación: 0.738,  $P < 0.001$ ); que los tres índices se correlacionaban de manera independiente con la mortalidad; que el APACHE II y la puntuación de Pitt están relacionados de manera positiva con la mortalidad por sepsis de adquisición en UCI; y que la puntuación de Pitt es mejor predictor de la tasa de mortalidad por sepsis y que además es más sensible y específico que el APACHE II y que el índice de Charlson (Rhee 2009).



En la revisión de Trecarichi *et al.* (Trecarichi 2012) se repasan otros factores en los estudios seleccionados en la revisión que se asociaban con la mortalidad en las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE. Así la gravedad clínica del SRIS en las bacteriemias fue uno de los factores más frecuentemente asociados con la mortalidad: un shock séptico, sepsis grave o hipotensión resultaron estar asociados de forma independiente con la mortalidad en 12 estudios; el ingreso en UCI o la ventilación mecánica se asociaron independientemente con la mortalidad en tres estudios; mientras que el deterioro del estado mental se asoció de forma independiente con la mortalidad en dos estudios. Además, la gravedad general de la enfermedad del paciente, expresada como puntuación APACHE II o puntuación de Pitt, se asociaba con la mortalidad en nueve estudios (identificándose los pacientes con un alto riesgo de mortalidad cuando APACHE II o Pitt eran  $\geq 16$  y  $> 1$  puntos, respectivamente). La presencia de una enfermedad rápidamente mortal, según la clasificación de McCabe y Jackson, o un índice de comorbilidad de Charlson  $> 2$  se encontraron también asociadas con la mortalidad en cuatro estudios.

Por otro lado, hay varios estudios que confirman la importancia del origen de la bacteriemia en la mortalidad; en el caso de enterobacterias productoras de BLEE, un origen desconocido, abdominal o respiratorio se asocian con mayor probabilidad de muerte (Rodríguez-Baño 2010 JCM, Kang 2010, Tumbarello 2008, Schwaber 2006, Melzer 2007); por el contrario, un origen urinario se asocia con mayor probabilidad de supervivencia (Rodríguez-Baño 2010 CID, Alvarez 2012).

Respecto a la etiología, en general las bacteriemias por *E. coli* en general, BLEE y no BLEE se asocian frecuentemente con infecciones cuyo origen tiene bajo efecto inóculo (como es el caso del origen urinario) o en las que se puede conseguir una reducción del inóculo a través de la cirugía (como son las infecciones del tracto biliar), además en el caso de EC-BLEE, es frecuente en muchas zonas del mundo que en la epidemiología de las resistencias por EC-

BLEE (como es España) predominen CTX-M y SHV-12 asociadas a una mayor sensibilidad a antimicrobianos como los BL/IBL.

A este respecto, la práctica totalidad de los estudios publicados en bacteriemias en general (Ibrahim 2000, Diekema 2002, Harbarth 2003, Kollef 1999, Wisplinghoff 2004) coinciden en observar una menor mortalidad si el tipo de enterobacteria es *E. coli*, si bien esta asociación no siempre es significativa. En las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE esta relación se mantiene, principalmente debido al mayor porcentaje de cepas sensibles de los distintos antimicrobianos a las infecciones por *E. coli* que por *K. pneumoniae* (Ruiz de Alegría 2011, Díaz 2010).

### **4.3 VARIABLES RESULTADO**

La variable resultado más frecuentemente usada en estudios observacionales que comparan fármacos en bacteriemias es la mortalidad. Si por una parte tiene la gran ventaja de ser una variable “dura”, es decir, fácilmente objetivable, también es cierto que puede no ser muy sensible para evaluar el efecto (los pacientes pueden no fallecer finalmente pero requerir mas tratamientos, etc). Por ello puede ser útil considerar adicionalmente la curación clínica en el momento en que se espera que la infección esté curada, usando definiciones similares a las estándares de ensayos clínicos. Esta variable tiene un componente subjetivo pero su interpretación puede ser complementaria a la de la mortalidad.

#### **4.4 ANÁLISIS: ANÁLISIS MULTIVARIANTE (REGRESIÓN LOGÍSTICA, REGRESIÓN DE COX), ÍNDICE DE PROPENSIÓN, ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD**

Un factor confundente (causante de sesgo de confusión) es aquella variable que se asocia con el evento a estudiar (en este caso, el pronóstico) y que se distribuye de manera desigual entre los pacientes expuestos y no expuestos a la variable a estudiar. La confusión se puede controlar:

- En el **diseño**. Se puede restringir la población a estudiar a los pacientes con o sin el factor de confusión. Por ejemplo, se podrían estudiar solo los pacientes con una puntuación de Pitt elevada, ó solo pacientes con infección de orina; así se controla el efecto de la puntuación de Pitt o del origen de la infección en el pronóstico, pero los resultados solo serán extrapolables a estas poblaciones. Una manera particular de restricción en el diseño es el análisis de cohortes apareadas. En este tipo de diseño, cada paciente expuesto a la variable de interés (por ejemplo, aquellos con bacterias resistentes) se aparea con uno o varios no expuestos (aquellos con bacterias sensibles, en el mismo ejemplo) y que además tienen las mismas características en base a las variables de apareamiento que se hayan decidido. Esta es la técnica usada en varios estudios por Blot *et al.* (Blot 2002 y 2003). Los riesgos de este diseño son el sobreapareamiento (si las variables de apareamiento son muy potentes en su capacidad de predicción del pronóstico será muy difícil que la exposición a la variable de interés muestre algún impacto) y la necesidad de un elevado tamaño muestral para tener poder estadístico suficiente. Ambas limitaciones son patentes en los estudios de Blot, en los que además se hace una mala interpretación de la "significación estadística" (al no encontrar diferencia "estadísticamente significativa" entre la mortalidad en las dos cohortes apareadas, los autores interpretan que no hay diferencias, cuando su error beta es muy alto y por tanto es inadecuado rechazar la hipótesis nula).

- En el **análisis**. Existen a su vez varias posibilidades. Por una parte, la estandarización, que es poco aplicable a los estudios de mortalidad en bacteriemias. Por otra parte, mediante el análisis estratificado (se compara la mortalidad en los expuestos a la variable de interés en función de que estén expuestos ó no expuestos a la variable de confusión); el problema es que estos subgrupos son de tamaño cada vez menor, con lo que su poder estadístico se va reduciendo. Y finalmente, mediante los análisis multivariantes, que permiten el control de la influencia de distintas variables al mismo tiempo y sin exclusiones.

En los estudios observacionales se considera siempre un número elevado de covariables, pretendiendo encontrar entre ellas las de mayor valor pronóstico. La incorporación de muchas covariables en un modelo multivariante es problemática. Por una parte, el número de datos (individuos distintos) necesarios para obtener resultados estadísticamente significativos crece muy rápidamente con el número de covariables. Por otra parte, las covariables que estén muy correlacionadas entre ellas no van a aportar información complementaria y van a potenciar la inestabilidad del modelo resultante. Por ello se debe seleccionar previamente las variables a introducir en un modelo multivariante (McGregor 2007).

La primera etapa en todo proceso de selección de variables debe basarse en el análisis univariante, y establecer relaciones entre variables dos a dos. El objetivo de esa primera etapa es reducir el número de covariables hasta un valor razonablemente pequeño, que permita estudiarlas conjuntamente (Fdez 1995, Elm 2007, McGregor 2007). Frecuentemente se incluyen en el modelo multivariante sólo aquellas variables que alcanzan significación estadística en los estudios univariantes, de manera que no se elimina la confusión por otros factores no incluidos en el modelo. Esto supone una limitación, ya que presumiblemente otros factores influyen en el pronóstico aunque no siempre con significación estadística. La no inclusión de estos factores puede sobreestimar el efecto del factor estudiado. La clave está en intentar considerar también estos factores confundentes, no solo en base a la significación estadística, sino en base a la sospecha clínica y a la revisión de la literatura disponible.

Desafortunadamente, los modelos automáticos de selección de variables ignoran estos factores (McGregor 2007), por ello es recomendable utilizar modelos que permitan al investigador ir conociendo como se modifica el modelo al introducir o eliminar cada variable. Estos modelos son diseñados mediante el método *stepwise* ("paso a paso") de selección de variables. Las dos estrategias para hacerlo son comenzando desde el modelo con todas las covariables incluidas para ir quitando las que no tienen influencia significativa (métodos "hacia atrás"), que suele usarse en estudios exploratorios en los que no partimos de variables hipótesis previas, y comenzando desde el modelo sin ninguna covariable para ir introduciéndolas progresivamente (métodos "hacia delante"); en estos casos, introducimos primero la variable hipótesis y vemos si el efecto se modifica al introducir otras. Estos métodos nos dan cierta libertad que debe razonarse a la hora de incluir o eliminar covariables que se consideren importantes en el efecto final estudiado.

Si el evento pronóstico se mide como una variable dicotómica (muerte o no, al final del seguimiento), los análisis multivariantes se realizan mediante regresión logística, que proporciona valores de odds ratio (OR) con sus intervalos de confianza (IC) al 95%. Si la variable resultado es el tiempo hasta la muerte o censura (momento en que los pacientes que no fallecen se dejan de seguir), pueden utilizarse estudios de supervivencia. El método Kaplan-Meier calcula la probabilidad de supervivencia de un grupo de pacientes expuesto a un factor en cada instante del estudio. La comparación de curvas de Kaplan-Meier mediante el test de log rank nos sirve para comparar la supervivencia en expuestos y no expuestos a variables cualitativas (Fernandez 1995, Elm 2007, Palmer 1991). La Regresión de Cox es un modelo multivariante de supervivencia que establece la relación entre el tiempo hasta la mortalidad y un conjunto de variables independientes. La regresión de Cox proporciona como medida de asociación el hazard ratio (HR).

#### 4.4.1 ÍNDICE DE PROPENSIÓN

La asignación aleatoria del tratamiento en los experimentos divide a los pacientes en grupos de tratamiento que estarán por efectos del azar aproximadamente equilibrados en cuanto a las covariables basales. Sin embargo, en los estudios observacionales, en los que la asignación del tratamiento no es aleatoria, los pacientes de los grupos de tratamiento a analizar difieren a menudo en covariables cruciales que están relacionadas con las variables de respuesta. Estos desequilibrios en las covariables pueden conducir a estimaciones sesgadas del efecto del tratamiento. El índice de propensión (*propensity score*) es la probabilidad de que a un paciente con unas características basales específicas se le asigne el tratamiento a estudio, y no el control. Al incluir este índice de propensión como una variable independiente en los modelos multivariantes a analizar, podemos diseñar estudios observacionales que sean análogos a los experimentos aleatorios, con un equilibrio aproximado entre pacientes en cuanto a las covariables observadas. Los diseños de estudios observacionales basados en índices de propensión estimadas pueden producir estimaciones aproximadamente insesgadas del efecto del tratamiento.

#### 4.4.2 ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD

El análisis de sensibilidad es muy útil cuando se trata de determinar el impacto que tendrá realmente en el resultado una variable en particular, y si éste difiere de lo que se suponía anteriormente. Así, mediante la creación de un determinado conjunto de escenarios, se puede determinar cómo los cambios en una variable(s) tendrán un impacto en la variable principal.

Un análisis de sensibilidad es, por tanto, el método que usamos para determinar la robustez de una valoración examinando en qué grado los resultados se ven influidos por cambios en la metodología o en los modelos utilizados en el estudio.



# **JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**





## 1. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años, la diseminación de las BLEE, en particular las enzimas CTX-M, en enterobacterias se ha convertido en un grave problema de salud pública en todo el mundo. De hecho, las cepas de EC-BLEE son actualmente causa frecuente de infecciones de adquisición comunitaria, nosocomial y relacionadas con los cuidados sanitarios (Paterson 2005; Pitout 2008; Rodríguez-Baño 2008). Los carbapenemes se consideran los fármacos de elección para el tratamiento de infecciones graves causadas por los microorganismos productores de BLEE en base a datos de algunos estudios observacionales (Paterson 2005; Pitout 2008; Rodríguez-Baño 2008).

En este contexto, los profesionales están cada vez más obligados a considerar el uso de carbapenemes como tratamiento empírico o definitivo para infecciones de adquisición nosocomial o comunitaria de carácter moderado o grave siempre que se sospeche o se demuestre la participación de un microorganismo productor de BLEE. Esto está provocando un aumento en el consumo de carbapenemes, lo que es particularmente preocupante en un escenario donde los organismos productores de carbapenemasas también se están extendiendo presumiblemente favorecidos por ese aumento (Schwaer 2008; Kumarasamy 2010). Por lo tanto, es prioritario la búsqueda de alternativas a los carbapenemes para las infecciones causadas por microorganismos productores de BLEE.

Las BLEE son inhibidas por los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas [Paterson 2005]. Las combinaciones de  $\beta$ -lactámicos/inhibidores de  $\beta$ -lactamasa (BL/IBL) como amoxicilina/ácido clavulánico o piperacilina/tazobactam son activas contra una importante proporción de enterobacterias productoras de BLEE, en particular *E. coli*, en muchas regiones del mundo (Chen 2011; Hawser 2011; Hoan 2010; Díaz 2010; Ruiz de Alegría 2011). Sin embargo, existe controversia sobre la eficacia de los BL/IBL para el tratamiento de infecciones graves causadas por enterobacterias productoras de BLEE (Paterson 2005). Un reciente estudio

observacional multicéntrico encabezado por nuestro centro mostró que el tratamiento con BL/IBL no se asociaba con una mayor mortalidad en comparación a los carbapenemes en pacientes con bacteriemia por EC-BLEE (Rodríguez-Baño 2011). No obstante, dado que la mayoría de los pacientes en este estudio tenía un origen de la infección urinario o biliar, no se pudieron extrapolar estos resultados a otros orígenes de la infección, a otro tipo de enterobacteria y a otras variables resultado como la curación (Pérez 2012). Un meta-análisis posterior no pudo aportar conclusiones firmes acerca de la eficacia de BL/IBL en las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE en comparación con los carbapenemes, dado que existían limitaciones significativas en los estudios incluidos en dicho meta-análisis y su heterogeneidad obstaculizaba esta comparación (Vardakas 2012).

El mejor diseño para comparar la eficacia de los BL/IBL en comparación con los carbapenemes es un ensayo aleatorizado controlado; en la actualidad se está desarrollando uno en Australia y Nueva Zelanda, cuyos resultados no se esperan antes de 3 años. Dado que es necesario disponer de datos lo más pronto posible, se plantea la necesidad de realizar un estudio observacional de alta calidad y tamaño muestral suficiente, para lo que sería esencial el desarrollo de estudios multinacionales. El diseño y la realización de estudios observacionales para evaluar la eficacia de los diferentes antimicrobianos para el tratamiento de las infecciones causadas por bacterias resistentes a múltiples fármacos presenta importantes retos y limitaciones a salvar. De hecho, los estudios observacionales publicados hasta la fecha presentan serias limitaciones que hacen que sea difícil interpretar sus resultados (Bettioli 2014).

Para resolver estas cuestiones hemos organizado un Consorcio Internacional para el estudio clínico de infecciones bacteriemias causadas por enterobacterias multirresistentes (proyecto INCREMENT). En este proyecto internacional se ha tratado de responder a algunas de las cuestiones indicadas anteriormente, entre ellas que la combinación de BL/IBL no es inferior a los carbapenemes para el tratamiento de bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE, independientemente del origen y del tipo de enterobacteria. El propósito de esta tesis doctoral es desarrollar y analizar esta comparación entre los  $\beta$ -lactámicos con inhibidores de  $\beta$ -lactamasas y los carbapenemes de los casos recogidos en el proyecto INCREMENT, tanto para el tratamiento empírico como para el dirigido. Se pretende que los resultados del estudio estén fundamentados en las recomendaciones metodológicas más recientes (Bettioli 2014). Para ello, se establecerán unos criterios muy estrictos para la asignación de tratamientos y aumentar así la validez interna de nuestros datos. Además, se utilizarán para el análisis métodos avanzados para el control de factores de confusión como el uso de los índices de propensión y análisis de sensibilidad.

## **2. HIPÓTESIS**

El tratamiento con BL/IBL de las bacteriemias causadas por por enterobacterias productoras de BLEE no es inferior en eficacia clínica a los carbapenemes, tanto para el tratamiento empírico como para el definitivo, independientemente del origen de la infección o del tipo de enterobacteria.

### 3. OBJETIVOS

1. En los pacientes con bacteriemia por enterobacterias productoras de BLEE, comparar las tasas de curación clínica en el día 14 y mortalidad hasta el día 30 con el uso empírico de BL/IBL y de carbapenemes.
2. Comparar las tasas de curación clínica en el día 14 y mortalidad hasta el día 30 con el tratamiento definitivo de BL/IBL y de carbapenemes.
3. Comparar las tasas de curación clínica en el día 14 y mortalidad hasta el día 30 considerando el impacto del mantenimiento del tratamiento empírico como definitivo, ó el cambio al otro grupo de antimicrobianos.
4. Comparar la eficacia de BL/IBL y carbapenemes en otras variables clínicas de interés, como la mortalidad al día 14 y la estancia hospitalaria.
5. Evaluar la tasa de curación y mortalidad en función de la CMI del BL/IBL empleado en el tratamiento.
6. Analizar las variables predictoras de curación/mejoría y mortalidad en las bacteriemias productoras por enterobacterias productoras de BLEE.

## **MATERIAL Y MÉTODO**





## 1 ÁMBITO DE ESTUDIO

El proyecto INCREMENT es un estudio multicéntrico, internacional, con 37 centros participantes de 12 países, y coordinado desde el Hospital Universitario Virgen de Macarena, creado con el propósito de evaluar la eficacia de diferentes regímenes de tratamiento antibiótico en el tratamiento de las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE ó carbapenemasas. Los centros participantes se muestran en la Tabla 4, y fueron seleccionados por ser centros de reconocido prestigio en el estudio clínico y microbiológico de infecciones por estos microorganismos, basado en que hubieran publicado trabajos en revistas científicas al respecto, y en una encuesta de viabilidad previa, en la que los centros debían garantizar disponer de informes microbiológicos y/o bases de datos que permitieran la detección de casos, y de historias clínicas o bases de datos de calidad para la recolección de las variables de interés.

**Tabla 4. Centros participantes en el proyecto INCREMENT**

Núm.	CENTROS PARTICIPANTES	PAÍS
1	Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla	ESPAÑA
2	Hospital Universitario Virgen Arrixaca de Murcia, Murcia	ESPAÑA
3	Hippokration Hospital Thessaloniki, Thessaloniki	GRECIA
4	University of Pittsburgh, Pittsburgh	EE.UU.
5	Hospital de Clinicas da Universidade Federal do Parana Curitiba, PR	BRASIL
6	Wits Donald Gordon Medical Centre, Johannesburg	SUDÁFRICA
7	National Taiwan University Hospital, Taiwan	TAIWAN
8	Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona	ESPAÑA
9	Hospital 12 de Octubre, Madrid	ESPAÑA
10	Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona	ESPAÑA
11	Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla	ESPAÑA
12	Hospital Español, Rosario	ARGENTINA
13	Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca	ESPAÑA
14	Hospital Marqués de Valdecilla, Santander	ESPAÑA
15	Hospital Clinic, Barcelona	ESPAÑA
16	Hospital Bellvitge, Barcelona,	ESPAÑA
17	Medical School, University of Thessaly Larissa, Atenas	GRECIA
18	Tel Aviv Sourasky medical center, Tel Aviv	ISRAEL
19	Baskent University Faculty of Medicine, Ankara	TURQUÍA
20	University General Hospital Attikon, Chaidari	GRECIA
21	Department of Medicine, University of Calgary, Calgary	CANADA
22	Hospital Universitario Reina Sofia, Córdoba	ESPAÑA
23	Hacettepe University School of Medicine, Ankara	TURQUÍA
24	Hospital La Paz, Madrid	ESPAÑA
25	Louis Stokes Cleveland VA Medical Center, Cleveland, OH,	EE.UU.
26	Institut für Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene. Universitätsklinikum Köln, Cologne	ALEMANIA
27	Complejo Hospitalario Universitario A Coruña, A Coruña	ESPAÑA
28	Hospital Ramón y Cajal, Madrid	ESPAÑA
29	Teaching Hospital Policlinico S. Orsola Malpighi, Bologna	ITALIA
30	Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen	ALEMANIA
31	Hospital Universitari Mútua de Terrassa, Barcelona	ESPAÑA
32	Policlinico Umberto I, University of Rome La Sapienza, Roma	ITALIA
33	Hospital Parc Taulí, Sabadell, Barcelona	ESPAÑA
34	National and Kapodistrian University of Athens, Laikon General Hospital, Atenas	GRECIA
35	Hygeia General Hospital, Atenas	GRECIA
36	Catholic University of the Sacred Heart, Roma	ITALIA
37	Royal Brisbane and Women's Hospital, Herston, Brisbane	AUSTRALIA

## **2 PERIODO DE ESTUDIO**

Por cada uno de los centros participantes se consideraron elegibles los episodios registrados entre enero de 2004 y diciembre de 2012 con los criterios de inclusión especificados más abajo.

La base de datos online para la inclusión de los casos por los centros participantes estuvo habilitada de Enero a Diciembre de 2013.

### 3 DISEÑO

El proyecto INCREMENT es un estudio multicéntrico, multinacional y observacional, de cohortes retrospectivo, de bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE o carbapenemasas. En este trabajo sólo se incluyen episodios productores de BLEE, por lo que en adelante solo se hará referencia a éstas. Las hipótesis, objetivos y plan estadístico del proyecto se habían desarrollado y registrado en ClinicalTrials.gov con anterioridad a la recolección de los datos (identificador: NCT01764490). Para la comunicación de los resultados se han seguido las recomendaciones STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology, von Elm 2007), ver Anexo VI.

En la cohorte INCREMENT se incluyeron episodios consecutivos de bacteriemias monomicrobianas por enterobacterias productoras de BLEE clínicamente significativas, tanto de adquisición comunitaria como nosocomial. La identificación de los microorganismos, los estudios de sensibilidad y la producción de BLEE se realizó en cada centro, siguiendo técnicas microbiológicas estandarizadas y aceptadas universalmente. En concreto, la producción de BLEE debió comprobarse al menos mediante técnicas fenotípicas de *screening* y confirmación recomendadas por el CLSI ó el EUCAST; la caracterización de la BLEE mediante técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (PCR) y secuenciación no se exigió como criterio para incluir los casos aunque esta información se recogió si estaba disponible. Los episodios subsecuentes ocurridos en un mismo paciente solo se incluyeron si el intervalo de tiempo entre los episodios fue superior a 3 meses. No hubo limitaciones de edad. Una vez cerrada la base, ésta se revisó para evaluar su consistencia y datos faltantes; en todos los casos de datos faltantes o no consistentes se remitieron consultas (queries) a los centros. Finalmente se excluyeron los casos con datos faltantes en variables explicativas o resultado clave.

Los casos fueron detectados en cada centro mediante la revisión de los informes de Microbiología y las bases de datos propias. Los datos fueron recogidos mediante la revisión de historias clínicas y de las bases de datos en cada centro.

## **SELECCIÓN DE LAS COHORTES DE ANÁLISIS**

Dada la importancia de evaluar de manera diferenciada el impacto de los BL/IBL y los carbapenemes en el tratamiento empírico y dirigido, con los pacientes de la cohorte INCREMENT se construyeron tres cohortes de análisis no excluyentes que se explican a continuación. Los criterios de inclusión y exclusión en cada cohorte se diseñaron con la intención de que las asignaciones a cada cohorte y a cada fármaco fueran tan ajustadas como era posible, con la intención de evitar sesgos de clasificación en la asignación y de supervivencia.

**a) Cohorte de tratamiento empírico (CTE).** En esta cohorte se analiza el impacto del tratamiento empírico con un BL/IBL ó un carbapeneme; el tratamiento definitivo se trata por tanto como una potencial variable confusora. Se incluyeron los pacientes que cumplieron los siguientes criterios:

- Haber recibido monoterapia empírica con un BL/IBL o con un carbapenem (o tratamiento combinado con fármacos sin actividad intrínseca frente a gram negativos, como glicopéptidos, linezolid ó daptomicina), siempre que el aislado fuera sensible o con sensibilidad intermedia a estos antimicrobianos según los criterios de CLSI (CLSI 2012).
- El tratamiento se inició en las primeras 24 horas tras la realización del hemocultivo.

- El antibiótico se administró durante al menos 48 horas, con la única excepción de los pacientes que murieron antes de las 48 horas, que se incluyó en la CTE si la muerte ocurrió después de haberse administrado por lo menos 1 día completo con ese tratamiento; por tanto, si el paciente murió durante el primer día de tratamiento empírica, éste se excluyó, dado que se considera que no es posible evaluar el efecto del tratamiento.

- Finalmente se excluyeron para nuestro análisis aquellos casos en los que se administró otro antibiótico con actividad contra gram negativos, aparte del BL/IBL ó carbapenem, aunque la cepa fuera resistente al mismo, dado que pudiera existir cierta actividad residual o sinergia.

**b) Cohorte de tratamiento definitivo (CTD).** En esta cohorte se analiza el impacto del tratamiento definitivo con un BL/IBL ó un carbapenem; el tratamiento empírico se trata por tanto como una potencial variable confusora. Los criterios para la inclusión en esta cohorte fueron:

- Se usó un BL/BLI ó un carbapenem al que la cepa fuera sensible o presentara sensibilidad intermedia in vitro en monoterapia (con los mismos condicionantes que en la CTE) como tratamiento definitivo.

- El tratamiento definitivo se inició en  $\leq 5$  días posteriores a la fecha del hemocultivo; obviamente se permitía que se hubiera continuado con el mismo fármaco administrado empíricamente.

- La duración del tratamiento con el fármaco fue al menos el 50% de la duración total de la terapia con antibióticos administrada para el episodio. Para los pacientes que fallecieron durante el tratamiento definitivo, sólo aquellos que murieron después de haberse administrado por lo menos 1 día completo con ese tratamiento se incluyeron en la cohorte.

**c) Cohorte de tratamiento conjunto (CTC).** En esta cohorte se analizó el impacto del mantenimiento del fármaco empírico durante el tratamiento definitivo, o su cambio. Los criterios para asignar a los pacientes a un fármaco u otro son los mismos que se usaron para las CTE y CTD. Para ser incluidos en esa cohorte, los pacientes debieron haber sobrevivido al menos 72 horas para tener oportunidad de haber recibido tratamiento definitivo, dado que el tratamiento empírico ya se evalúa en la CTE. Los pacientes se clasificaron en función del tratamiento empírico y definitivo recibido en: carbapenem-carbapenem; BL/IBL-carbapenem; BL/IBL-BL/IBL; otros fármacos-carbapenem; u otros fármacos-BL/IBL.

## 4 DEFINICIONES Y VARIABLES

- Bacteriemia monomicrobiana: aquella en las que en los hemocultivos solo se aisló un microorganismo.
- Bacteriemia clínicamente significativa: aquella bacteriemia acompañadas de datos clínicos de infección o criterios de sepsis (ver después).
- Monoterapia: administración de un solo antimicrobiano intrínsecamente activo frente a bacterias gram negativas. Se consideró monoterapia la asociación de BL/IBL ó carbapenem con glicopéptidos, linezolid o vancomicina.
- BL/IBL: se incluyeron cualquier combinación fija de un BL con ácido clavulánico, tazobactam o sulbactam. Debido a los fármacos utilizados en los centros participantes, solo se incluyeron casos tratados con amoxicilina/ácido clavulánico, piperacilina/tazobactam y ampicilina/sulbactam.
- Carbapenem: se incluyeron imipenem, meropenem, doripenem y ertapenem.

Las variables fueron recogidas por los investigadores asignados en cada centro en la base de datos online común creada para tal objeto (se adjunta hoja de recogida de datos en Anexo V). El acceso a la base de datos estaba restringido por nombre de usuario y una contraseña individual de manera que cada centro sólo podía acceder con sus claves a los casos incluidos por él. Las variables se seleccionaron considerando su importancia clínica en base a estudios previos, y su facilidad de recogida en un estudio retrospectivo y multinacional. De todos los episodios se recogieron los siguientes datos:



#### 4.1 VARIABLES RESULTADO

- Variables de resultado principales: tasa de curación o mejoría a los 14 días siguientes al día de realización del hemocultivo, y mortalidad a los 30 días.
- Variables de resultado secundarias: Mortalidad a los 14 días y estancia hospitalaria.

Definiciones de las variables de resultado:

- Curación: resolución de todos los signos y síntomas relacionados con la infección, y el paciente ya no precisa continuar con tratamiento antibiótico.
- Mejoría: control parcial o resolución de los signos y síntomas relacionados con la infección, o resolución de los mismos pero la terapia antibiótica es todavía necesaria en el momento de la evaluación.
- No mejoría o deterioro: situación clínica calificada como similar o peor en comparación con la situación en el diagnóstico de bacteriemia, ó fallecimiento.
- Muerte: muerte del paciente por cualquier razón.
- Estancia hospitalaria: Considerada como el tiempo transcurrido desde el hemocultivo hasta la fecha de alta en los supervivientes.

#### 4.2 VARIABLES DEMOGRÁFICAS

Centro al que pertenecía el caso, el área de hospitalización, edad en años y sexo.

### 4.3 ADQUISICIÓN

La adquisición de la bacteriemia se clasificó en primer lugar, en comunitaria y nosocomial, en base a la definición clásica del CDC (Garner 1988):

1. Adquisición nosocomial: bacteriemia que ocurrió después de 48 horas de ingreso hospitalario, y cuyos síntomas no estaban presentes al ingreso o durante las primeras 48 horas de ingreso; asimismo se incluyeron como tales los casos ocurridos antes de 7 días tras el alta hospitalaria.
2. Adquisición comunitaria: el resto.

A continuación, las bacteriemias comunitarias se subclasificaron usando una modificación de los criterios de Friedman (Friedman 2002):

- Relacionadas con la atención sanitaria si:

1. Las bacteriemias eran secundarias a terapia intravenosa domiciliaria; o a un procedimiento invasivo diagnóstico o terapéutico realizado de forma ambulatoria en los 30 días previos al episodio.
2. Se trataba de pacientes en hemodiálisis crónica, diálisis peritoneal o que habían recibido quimioterapia intravenosa ambulatoria en los 30 días previos.
3. Ocurrían en pacientes que habían estado ingresados más de 48 horas en un centro hospitalario en el año previo.
4. Ocurrían en pacientes ingresados en residencias de ancianos y en centros de larga estancia.

- Estrictamente comunitarias:

1. Cuando no se cumplían ninguna de estas condiciones.

#### 4.4 FACTORES INTRÍNSECOS

La gravedad de la enfermedad de base fue medida por los siguientes índices:

- Índice de Charlson (Charlson 1988): Se trata de un índice que predice la probabilidad de muerte durante el ingreso hospitalario en base a la patología de base. El índice de Charlson se construye mediante la suma de puntos en función de las patologías del paciente:
  - 1 punto: infarto de miocardio, insuficiencia cardiaca congestiva, enfermedad vascular periférica, demencia, enfermedad pulmonar crónica, enfermedad del tejido conectivo, enfermedad ulcerosa, enfermedad hepática leve, diabetes mellitus.
  - 2 puntos: hemiplejía, enfermedad renal moderada ó grave, diabetes con afectación en órgano diana, cualquier tumor maligno, leucemia, linfoma.
  - 3 puntos: enfermedad hepática grave.
  - 6 puntos: tumor sólido metastásico, sida.
- Clasificación de McCabe (McCabe 1962): la situación del paciente se clasifica, en función de la situación de las enfermedades crónicas de base, en:
  - No fatal: no enfermedad de base, ó de la que no se espera la muerte en al menos 5 años.
  - Últimamente fatal: es esperable la muerte como consecuencia de la enfermedad de base en menos de 5 años.
  - Rápidamente fatal: es esperable la muerte como consecuencia de la enfermedad de base en el próximo año.

Además, se recogieron las enfermedades y condiciones de base siguientes:

- *Diabetes mellitus*: se consideró que un paciente tenía diabetes mellitus cuando así constaba en la historia, o cuando el paciente estaba en tratamiento con antidiabéticos orales ó insulina, o cuando se objetivó glucemia igual o superior a 145 mg/dl en pacientes no sometidos a fluidoterapia que pueda producir aumentos en las glucemias (en estos casos se consideran valores superiores a 200 mg/dl).
- *Enfermedad pulmonar crónica*: presencia de criterios clínicos de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) (enfermedad obstructiva, restrictiva o vascular pulmonar que induzca insuficiencia respiratoria que impida realizar tareas habituales), o datos analíticos de insuficiencia respiratoria crónica o hipertensión pulmonar (>40 mmHg).
- *Infarto de miocardio*: pruebas por ECG.
- *Insuficiencia cardíaca congestiva*: Aquel con grados II o superiores de la HYHA.
- *Enfermedad hepática*: presencia de síntomas o signos de insuficiencia hepática crónica (antecedentes de encefalopatía hepática, ascitis secundaria, hipertensión portal, hiperesplenismo), fibrosis hepática significativa o cirrosis.
- *Enfermedad del tejido conectivo*: aquella que requiere terapia inmunosupresora.
- *Insuficiencia renal*: presencia de valores de creatinina superiores a 2,5 mg/dl en la analítica más reciente, ó aclaramiento < a 30 ml/min.
- *Demencia*: si limita significativamente la independencia para las actividades básicas.
- *Cualquier tumor*: cualquier tumor maligno que requiere quimioterapia y / o radioterapia, o los cuidados paliativos. Si existe, se solicita que se especifique si es linfoma o metastásico.
- *Enfermedad arterial periférica*: si causan úlceras en la piel o se necesita revascularización o amputación necesaria.
-

#### 4.5 VARIABLES CLÍNICAS

Origen de la bacteriemia. Se consideró en función de los datos clínicos, analíticos, radiológicos y microbiológicos (aislamiento del microorganismo en otras localizaciones), siguiendo los criterios del CDC (Garner 1988). Los orígenes considerados fueron: urinario, biliar, vascular, respiratorio, intraabdominal, de piel y partes blandas, osteoarticular, desconocido u otro origen (si no correspondía a ninguno de los anteriores).

Índice de Pitt (Paterson 2004). Se trata de un índice validado en pacientes con bacteriemia causada por distintos microorganismos que predice la probabilidad de muerte en función de la situación de gravedad aguda del paciente en el momento de sufrir la bacteriemia. Se recogió la peor puntuación (más alta) en el día de la toma del hemocultivo o en las 24 horas previas. El índice se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5. Índice de valoración de gravedad aguda de la bacteriemia de Pitt (Paterson 2004).**

	Puntos
- <i>Temperatura:</i>	
35°C ó $\geq 40^\circ\text{C}$	2
35,1°C – 36°C ó 39°C – 39,9°C	1
36,1 – 38,9°C	0
- <i>Hipotensión:</i>	
Hipotensión aguda con descenso de tensión arterial (TA) sistólica y diastólica $> 30$ y $20$ mm Hg respectivamente, ó uso de agentes vasopresores, ó TA sistólica $< 90$ mmHg	2
- <i>Ventilación mecánica</i>	2
- <i>Fracaso cardiaco</i>	4
- <i>Estado mental:</i>	
Alerta	0
Desorientación	1
Estupor	2
Coma	4

Presencia y gravedad del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. Se clasificó, en base a las definiciones estandarizadas (ACCP/SCCM 2006), de la siguiente manera:

- **Sepsis:** presencia de al menos dos de los siguientes: fiebre ( $T^a \geq 38^{\circ}\text{C}$ ) ó hipotermia ( $\leq 36^{\circ}\text{C}$ ), taquicardia  $> 90$  sístoles/minuto, taquipnea  $> 20$  respiraciones/minuto ó  $\text{Pa CO}_2 < 32$  mmHg, y leucocitosis ( $> 12.000/\text{mm}^3$ ) ó leucopenia ( $< 4.000/\text{mm}^3$ ).
- **Sepsis grave:** presencia además de hipotensión o hipoperfusión que no cede con aporte de fluidos.
- **Shock séptico:** hipotensión ó hipoperfusión que no cede con aporte de fluidos y que precisa de la administración de aminas vasoactivas (dopamina, etc).

#### 4.6 TRATAMIENTO DE LA BACTERIEMIA

- **Tratamiento empírico:** se consideró como tal al que se indicó antes de conocer la sensibilidad del microorganismo causante.
- **Tratamiento definitivo:** el que se indicó una vez conocida la sensibilidad del microorganismo causante.

En ambos casos se anotó el antimicrobiano, las dosis, la fecha de inicio y fin de tratamiento, así como las razones por la que se dejó de administrar el antibiótico. Asimismo se recogió si el tratamiento empírico era adecuado o no en base a estas definiciones:

- **Tratamiento antimicrobiano empírico adecuado:** cuando se administró al menos un antimicrobiano frente al que el microorganismo aislado era sensible o presentaba sensibilidad intermedia in vitro en función de los puntos de corte y recomendaciones de interpretación del CLSI de 2012, durante las primeras 24 horas, a las dosis habitualmente recomendadas.

- **Tratamiento antimicrobiano empírico inadecuado:** si no se cumplía alguno de los criterios anteriores.

#### **4.7 VARIABLES MICROBIOLÓGICAS**

Se incluyeron el género y especie de enterobacteria la sensibilidad al fármaco administrado (y la CMI cuando se había estudiado por microdilución) y, cuando estaba disponible, el tipo específico de BLEE.

## 5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis se realizaron utilizando los programas informáticos estadísticos R software (version 3.0.1) y SPSS versión 15.0.

### 5.1 TAMAÑO MUESTRAL

Para poder demostrar la no inferioridad de los BL/IBL respecto a los carbapenemes con unos errores  $\alpha$  y  $\beta \leq$  al 5% y al 20% respectivamente, para un límite de no inferioridad del 10%, y considerando unas tasas estimadas de curación y mejoría del 85% tanto para los carbapenemes como para los BL/IBL, y considerando que el 55% de los pacientes se tratarían con carbapenemes en la cohorte de tratamiento empírico, y del 70% en la cohorte de tratamiento definitiva, se necesitarían 176 pacientes tratados con carbapenemes y 144 con BL/IBL para la cohorte de tratamiento empírico, mientras que se necesitarían 263 y 113, respectivamente, para la cohorte definitiva.

### 5.2 ANÁLISIS UNIVARIANTE

Inicialmente realizamos un análisis de las características de los casos incluidos en la cohorte empírica y en la definitiva en función del tipo de tratamiento administrado, BL/IBL o carbapenemes. Las variables cualitativas se expresan mediante número absoluto y porcentaje, y las variables continuas, mediante la mediana y el rango intercuartílico (RIC). Algunas variables cualitativas de más de dos categorías se recodificaron en dicotómicas tras examinar la potencial asociación con las variables resultado de cada estrato. Las variables continuas se compararon mediante el test de la U de Mann-Whitney si no eran normales o los tamaños muestrales eran menores a 40, ó mediante el test de la t-student en otro caso.



A continuación se analizó la asociación cruda entre el tratamiento y otras variables con las variables de resultado principales mediante regresión logística calculando las odds ratio (OR) y su intervalo de confianza al 95% y el valor de P.

Además se realizaron curvas sin datos censurados para la mortalidad hasta el día 30 mediante el método de Kaplan-Meier. Las curvas de Kaplan-Meier se compararon mediante el test de log-rank.

### **5.3 ÍNDICE DE PROPENSIÓN**

Se calcularon índices de propensión (*propensity scores*) para la recepción de tratamiento con un BL/IBL ó carbapenem para las distintas cohortes de análisis. Para ello se realizó un modelo multivariante no parsimonioso (es decir, sin limitar el número de variables) en cada una de estas cohortes, usando como variable resultado el recibir tratamiento empírico un carbapenem para la CTE; el recibir como tratamiento definitivo un carbapenem para la CTD; y el recibir tratamiento empírico y definitivo con un carbapenem para la CTT, e introduciendo como variables explicativas todas aquellas previas a la indicación del tratamiento. Con este modelo se obtuvo una probabilidad para cada paciente de haber recibido uno u otro fármaco, que es el *índice de propensión*, en base a todas las variables introducidas. Para los modelos realizados se calculó el área bajo la curva ROC para conocer su capacidad de predicción y el valor de P del test de Hosmer-Lemeshow para la bondad del ajuste.

El *índice de propensión* se utilizó como una variable confusora en los análisis multivariantes.

## 5.4 ANÁLISIS MULTIVARIANTE

Se han hecho análisis independientes para las tres cohortes de análisis.

Para evaluar las variables de resultado principales, curación/mejora a 14 días y mortalidad a los 30 días, se realizó en cada una de las tres cohortes un análisis multivariante mediante regresión logística para controlar a confusión y las posibles interacciones, utilizando la curación clínica/mejora en el día 14 ó la mortalidad en el día 30 como las variables dependientes y la terapia con BL/IBL o carbapenemes como la variable explicativa de interés. Previamente se había calculado (y añadido al modelo) el índice de propensión. Además, se agregaron al modelo las potenciales variables confusoras y las interacciones, incluyendo la variable centro, y se seleccionaron las variables paso a paso hacia atrás, manteniendo siempre el *índice de propensión* en los modelos finales. El criterio de información de Akaike (CIA), (Akaike, 1974), se siguió para seleccionar el mejor modelo. Así, estos modelos seleccionados correspondían a los que minimizaban la divergencia de Kullback-Leibler entre los modelos y los casos. Es decir, dado un conjunto de modelos candidatos para los datos, el modelo preferido es el que tiene el valor mínimo en el CIA. Por lo tanto AIC no sólo recompensa la bondad de ajuste, sino también incluye una penalización, que es una función creciente del número de parámetros estimados. Esta penalización desalienta el sobreajuste de los modelos que incluyen excesivas variables predictoras que aportan poco al ajuste del modelo.

Para confirmar la fortaleza de los resultados y conclusiones obtenidos se realizó un análisis de sensibilidad en la cohorte empírica y definitiva mediante la realización de modelos multivariante en subgrupos de interés.

El plan inicial era haber realizado un análisis de regresión de modelos propocionales de Cox para el análisis multivariante de la mortalidad. Sin embargo, tras la realización de las curvas de supervivencia se apreció que no era posible usar este análisis por no cumplirse el principio de proporcionalidad en la

mortalidad a lo largo del tiempo, por lo que tuvimos que sustituirlo por la regresión logística tal como se ha explicado arriba.

También se obtuvo un modelo multivariante mediante regresión lineal en ambas cohortes, empírica y definitiva, para evaluar la duración de la estancia hospitalaria después de la bacteriemia y el tipo de tratamiento con BL/IBL o con carbapenemes.

## **5.5 META-ANÁLISIS**

Además del análisis multivariante y del índice de propensión, y con el principal propósito de controlar el efecto centro, se llevó a cabo en ambas cohortes (CTE y CTD) un meta-análisis de datos individuales de dos pasos: primero se calculó una puntuación en todos los pacientes de cada una de las cohortes basada en los  $\beta$ -coeficientes predictores de mortalidad en bacteriemias obtenidos en un estudio previo (Retamar 2012). La capacidad predictiva de mortalidad a 30 días de este modelo en las cohortes de nuestro estudio se comprobó hallando el área bajo la curva ROC (AUROC) en la CTE y en la CTD (AUROC [IC 95%]: 0.85 [0.81-0.89] y 0.78 [0.73-0.84], respectivamente).

A continuación, se clasificaron todos los casos en dos subgrupos según su puntuación  $\leq 3$  o  $> 3$  (bajo o alto riesgo de mortalidad), separándolos en tres regiones geográficas (clusters) a las que pertenecían (España, países mediterráneos y resto del mundo), siguiendo un criterio tanto de homogeneidad en el número de casos de cada región, como de agrupar en una región los países con mayor frecuencia de resistencias por BLEE (EARSS data). Finalmente se calcularon las Odds Ratio (OR) de mortalidad a 30 días de ambos subgrupos usando un modelo de efectos aleatorios.

## **6 ASPECTOS ÉTICOS Y FINANCIACIÓN**

Se trata de un estudio observacional retrospectivo, por lo que la principal cuestión ética que se consideró fue la protección de los datos de los pacientes. Por ello, en la base de datos que se desarrolló, los datos de los pacientes no contienen información personal de los mismos que pudieran identificarlos directa o indirectamente. El acceso a la base de datos sólo se permitía mediante el uso de una clave de acceso individual.

El proyecto INCREMENT en el que se basa este análisis fue clasificado por la Agencia Española del Medicamento (AEMPS; code JRB-ANT-2012-01) como "Estudio post-autorización con otros diseños diferentes al de seguimiento prospectivo", EPA-OD) y fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Virgen de Macarena (código 1921), no considerando necesaria la obtención de consentimiento informado por escrito dada la naturaleza observacional y retrospectiva del estudio (ver Anexo I). También fue aprobado por los comités de ética de los centros participantes cuando fue necesario.

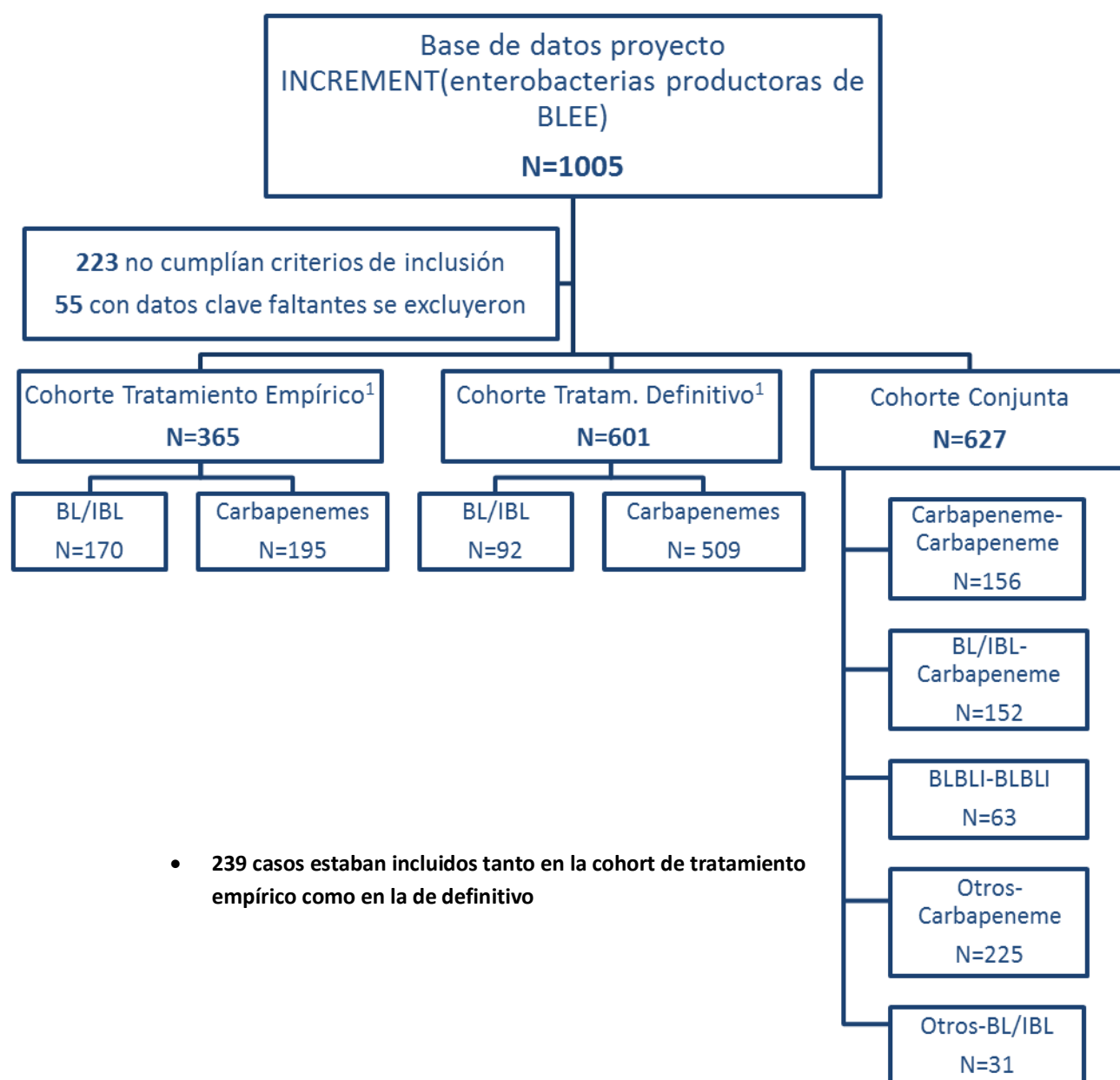
Este estudio ha sido financiado por la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI), Ministerio de Ciencia e Innovación, Instituto de Salud Carlos III, cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional "Una manera de hacer Europa", FEDER, (REIPI RD12/0015). Asimismo, el estudio ha sido patrocinado por el European Study Group on Bloodstream Infections and Sepsis (ESGBIS) de la European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID).

## RESULTADOS



## **1 OBTENCIÓN DE LAS COHORTES**

En la cohorte del Proyecto INCREMENT se habían incluido 1.005 casos de bacteriemia por enterobacterias productoras de BLEE, de la que finalmente se excluyeron 55 por datos faltantes, quedando 950 casos. Estos 950 casos fueron examinados para su inclusión en las tres cohortes de análisis (Figura 1).



**Figura 1. Diagrama de flujos con los casos incluidos en las cohortes**



## 2 COHORTE DE TRATAMIENTO EMPÍRICO

### 2.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES SEGÚN TIPO DE TRATAMIENTO

De los 365 pacientes incluidos en la CTE, 170 recibieron de tratamiento empírico un BL/IBL (123 con piperacilina/tazobactam, 45 con amoxicilina/ácido clavulánico y 2 con ampicilina/sulbactam), y 195 con un carbapenem (126 con meropenem, 35 con imipenem y 32 con ertapenem).

En esta cohorte, la distribución de episodios por enterobacterias fue: *E. coli*, 266 casos (72.9%); *K. pneumoniae*, 78 (21.4%); *Enterobacter cloacae*, 13 (3.5%); y otras, 8 (2.2%).

Fueron caracterizadas las BLEE de 119 casos (32.6%). Las BLEE más frecuentes fueron las enzimas CTX-M-15 (35 casos, 29.4%), CTX-M-9 (24 casos, 20.1%), CTX-M-1 (22 casos, 18.5%), CTX-M-14 (19 casos, 15.6%), SHV-12 (12 casos, 10.1%) y TEM (7 casos, 5.9%).

Respecto a las dosis recibidas, los pacientes de cada grupo recibieron por vía intravenosa principalmente (o su equivalente ajustado en caso de fallo renal): para piperacilina/tazobactam, 4000 mg/8h (47%) y 4000 mg/6h (18%); para amoxicilina/ácido clavulánico, 1000 mg/8h (73.6%); para imipenem, 500 mg/6h (40%) y 500 mg/8h (29%); para meropenem, 1g/8h (65%) y 1g/12h (20%); y para ertapenem, 1g/24 h (84%).

Las características de los pacientes por tipo de tratamiento (BL/IBL o carbapenem) se muestran en la Tabla 6.

**TABLA 6. Características de los pacientes con bacteriemias causadas por enterobacterias productoras de BLEE según el tratamiento empírico recibido, en la cohorte de tratamiento empírico<sup>a</sup>.**

	Cohorte de tratamiento empírico		
	BL/IBL (n=170)	Carbapenem (n=195)	p
Edad en años, mediana (RIC)	71.5 (59-79)	66 (54.5-76)	<b>0.005<sup>b</sup></b>
Sexo varón	95 (55.9%)	117 (60%)	0.42
Enterobacterias			
<i>E. coli</i>	130 (76.3%)	136 (69.7%)	0.15
<i>K. pneumoniae</i>	29 (17.1%)	45 (23.1%)	0.15
Otras	11 (6.5%)	14 (7.2%)	0.79
Adquisición nosocomial	75 (44.1%)	91 (46.7%)	0.63
Origen			
Urinario	77 (45.3%)	91 (46.7%)	0.79
Biliar	25 (14.7%)	24 (12.3%)	0.5
Otros	68 <sup>c</sup> (40%)	80 <sup>d</sup> (41%)	0.84
Cancer <sup>e</sup>	50 (29.8%)	74 (38.9%)	0.068
Ingreso en UCI	13 (7.8%)	26 (13.8%)	0.071
Charlson, mediana (RIC)	2 (1-4)	2 (1-4)	0.21 <sup>b</sup>
Mc Cabe, mediana (RIC) <sup>f</sup>	1 (0-1)	1 (0-1)	0.78 <sup>b</sup>
Pitt, mediana (RIC)	1 (0-3)	1 (0-3)	0.30 <sup>b</sup>
Sepsis grave o shock séptico	67 (39.6%)	72 (38.7%)	0.86
<b>Terapia definitiva</b>			
Carbapenem	80 (47.1%)	169 (86.7%)	<b>&lt;0.0001</b>
BL/IBL	65 (38.2%)	8 (4.1%)	<b>&lt;0.0001</b>
Otros	25 (14.7%)	18 (9.2 %)	0.11

<b>Tasa de curación/ mejoría</b>			
Día 7	129 (75.9%)	154 (78.97%)	0.48
Día 14	136 (80%)	154 (78.97%)	0.81
<b>Mortalidad</b>			
Día 7	19 (11.17%)	25 (12.82%)	0.63
Día 14	21 (12.35%)	30 (15.38%)	0.4
Día 30	30 (17.65%)	39 (20%)	0.57
<b>Estancia hospitalaria</b> en días, mediana (RIC)	12.5 (7-21.75)	13 (7-23)	0.31 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Excepto donde se especifique, los datos incluidos son N°. (%) de pacientes. El valor de P se ha calculado por test  $\chi^2$ , excepto donde se especifique.

BL/IBL: Betalactámico/inhibidor de  $\beta$ -lactamasas. RIC, rango intercuartílico.

En negrita, valores de  $p < 0.05$

<sup>b</sup> U-Mann Whitney test.

<sup>c</sup> Desconocidos 21; intraabdominal 20; respiratorio: 12; piel y partes blandas: 7; vascular: 7; otros: 1

<sup>d</sup> Desconocidos: 27; vascular: 19; intraabdominal: 16; respiratorio: 10; piel y partes blandas: 5; otros: 3

<sup>e</sup> No se exponen datos de otras enfermedades de base al no haber diferencias significativas.

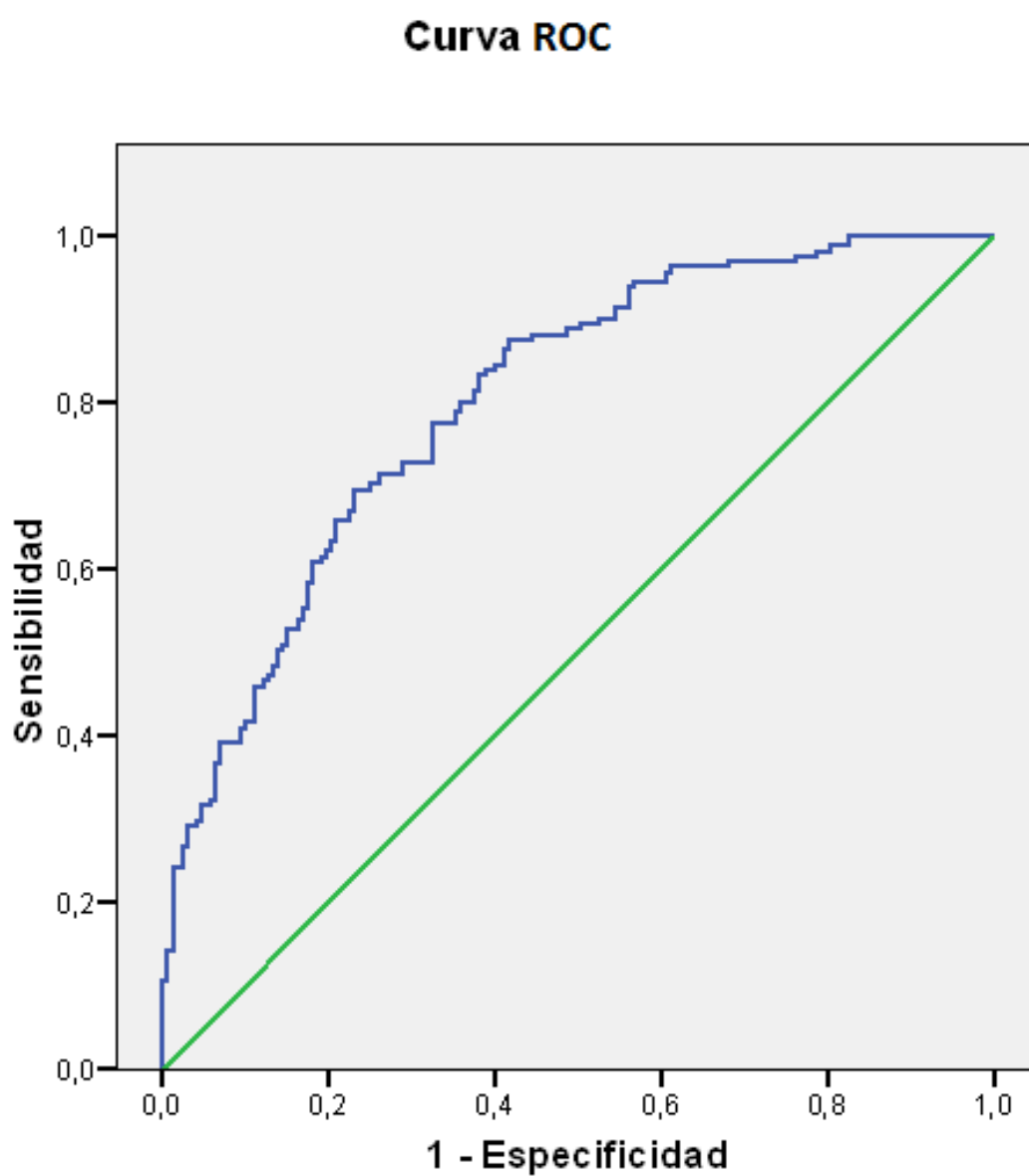
<sup>f</sup> No fatal=0; últimamente fatal=1; rápidamente fatal=2

## 2.2 ÍNDICE DE PROPENSIÓN

Para el cálculo del índice de propensión se incorporaron las siguientes variables al modelo: el centro al que pertenecía el caso incluido, la edad, el sexo, el tipo de adquisición, el área de hospitalización, el origen de la infección, la gravedad de la infección, el índice de Pitt, la puntuación de McCabe, la existencia o no de cáncer, diabetes mellitus, insuficiencia renal, enfermedad cardíaca o hepática y la inmunosupresión.

El modelo finalmente resultante tuvo una  $p=0.47$  en la prueba de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow y un área bajo la curva ROC de 0.80 (Figura 2), mostrando, por tanto, una buena capacidad predictiva.

Este índice de propensión se incluyó como una variable siempre fija en los modelos multivariantes.



**Figura 2. Curva ROC del modelo predictivo calculado para el índice de propensión en la CTE**

## 2.3 CURACIÓN Y MEJORÍA A 14 DÍAS

La tasa cruda de curación y mejoría a los 14 días de los pacientes tratados con un BL/IBL fue de un 80.0 %, mientras que para los tratados con un carbapenem fue del 79.0% (diferencia absoluta, 1.0%, IC 95%: -7.3% – 9.2%;  $p=0.81$  por el test de  $\chi^2$ ). Las tasas de curación/mejoría a los 14 días fueron del 76.4% (94 de 123 pacientes) para los tratados con piperacilina/tazobactam y del 88.9% (40 de los 45 pacientes) de los tratados con amoxicilina/ácido clavulánico ( $p = 0.075$ , prueba de  $\chi^2$ ). En la tabla 7 se incluye la curación y mejoría según la CMI de la amoxicilina/ácido clavulánico y piperacilina/tazobactam.

**Tabla 7. Tasas de curación y mejoría a los 14 días en pacientes que recibieron Tratamiento empírico con un BL/IBL de acuerdo a la concentración mínima inhibitoria del antimicrobiano suministrado<sup>a</sup>.**

ANTIMICROBIANO	Concentración Mínima Inhibitoria, mg/L					
	≤1	2	4	8	16	32-64
Amoxicilina / ácido clavulánico (45 casos)		1/1 (100%)	7/9 (78%)	24/26 (92%)	8/9 (89%)	
Piperacilina/tazobactam (123 casos)	2/3 (67%)	2/3 (67%)	26/31 (84%)	27/34 (79%)	24/33 (73%)	13/19 (68%)

<sup>a</sup> Los Datos presentados corresponden a nº de pacientes con curación/mejoría a los 14 días/nº total de pacientes tratados.

En cuanto a los carbapenemes, las tasas de curación/mejoría en el día 14 las tasas fueron del 75% (96 de 128 pacientes) para los tratados con meropenem, del 82.9% (29/35) para imipenem y del 90.6% (29/32) de los pacientes tratados con ertapenem ( $p = 0.08$  por el test de  $\chi^2$ , comparando ertapenem vs otros carbapenemes).

Se analizó la asociación univariante de aquellas variables de interés pronóstico con la curación/mejoría (tabla 8).

Después de controlar por las otras variables asociadas con la tasa de curación y mejoría en el día 14 en un modelo de regresión logística multivariante (edad, origen de la infección-urinario, biliar u otro-, presentación con sepsis grave o shock séptico, puntuación de McCabe, índice de Pitt, y el índice de propensión), el tratamiento empírico con BL/IBL no mostró asociación significativa con la tasa de curación y mejoría a los 14 días con respecto al tratamiento empírico con carbapenemes (OR: 0.68; IC al 95%, 0.20 a 2.21; P = 0.52; ver Tabla 8). Las interacciones entre el tratamiento empírico con BL/IBL y la sepsis grave o shock séptico en la presentación, con el origen de la infección y con la especie de enterobacteria también fueron analizadas en el análisis multivariante, dejándose finalmente en el modelo la primera de las tres por su importancia clínica. Cuando se forzó en el modelo la variable "tratamiento definitivo con carbapenemes u otros", no se encontraron tampoco diferencias significativas. Tampoco cuando se forzó en el modelo la variable "Centro al que pertenece el caso".

**Tabla 8. Análisis mediante regresión logística de las variables asociadas a curación/mejoría a los 14 días en la cohorte de tratamiento empírico<sup>a</sup>.**

Variable	Análisis crudo		Análisis ajustado	
	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	P
Edad, por año	0.99 (0.97-1.005)	0.17	0.97 (0.95-0.99)	<b>0.011</b>
Sexo varón	1.04 (0.62-1.74)	0.88		
Enterobacterias				
<i>E. coli</i>	Referencia			
<i>K. pneumoniae</i>	0.55 (0.31-0.99)	<b>0.044</b>		
Otros	2.2 (0.6- 14.1)	0.30		
Adquisición Nosocomial	0.48 (0.28- 0.80)	<b>0.005</b>		
Origen				
Urinario	Referencia		Referencia	
Tracto biliar	0.9 (0.38- 2.42)	0.83	0.83 (0.27-2.79)	0.75
Otros	0.33 (0.19-0.58)	<b>0.0002</b>	0.28 (0.13-0.56)	<b>0.0004</b>
Ingreso en UCI	0.53 (0.26-1.15)	0.10		
Índice de Charlson (por unidad)	0.89 (0.81-0.98)	<b>0.017</b>		
Clasificación de Mc Cabe (por unidad)	0.49 (0.34-0.70)	<b>&lt;0.0001</b>	0.64 (0.41-0.99)	0.044
Puntuación de Pitt (por unidad)	0.7 (0.62-0.78)	<b>&lt;0.0001</b>	0.79 (0.70-0.9)	<b>0.0005</b>
Sepsis grave o shock	0.13 (0.07-0.23)	<b>&lt;0.0001</b>	0.16 (0.05-0.45)	<b>0.0007</b>
<b>Tratamiento empírico con BL/IBL</b>	1.064 (0.64-1.78)	0.81	0.68 (0.2-2.21)	0.52
Tratamiento definitivo				
Carbapenem	Referencia			
Otros	0.85 (0.5-1.47)	0.55		
Índice de propensión	1.13 (0.41-3.16)	0.81	1.03 (0.24-4.45)	0.96
Interacción tratamiento empírico con BL/IBL y sepsis grave o shock			1.96 (0.50-8.01)	0.34

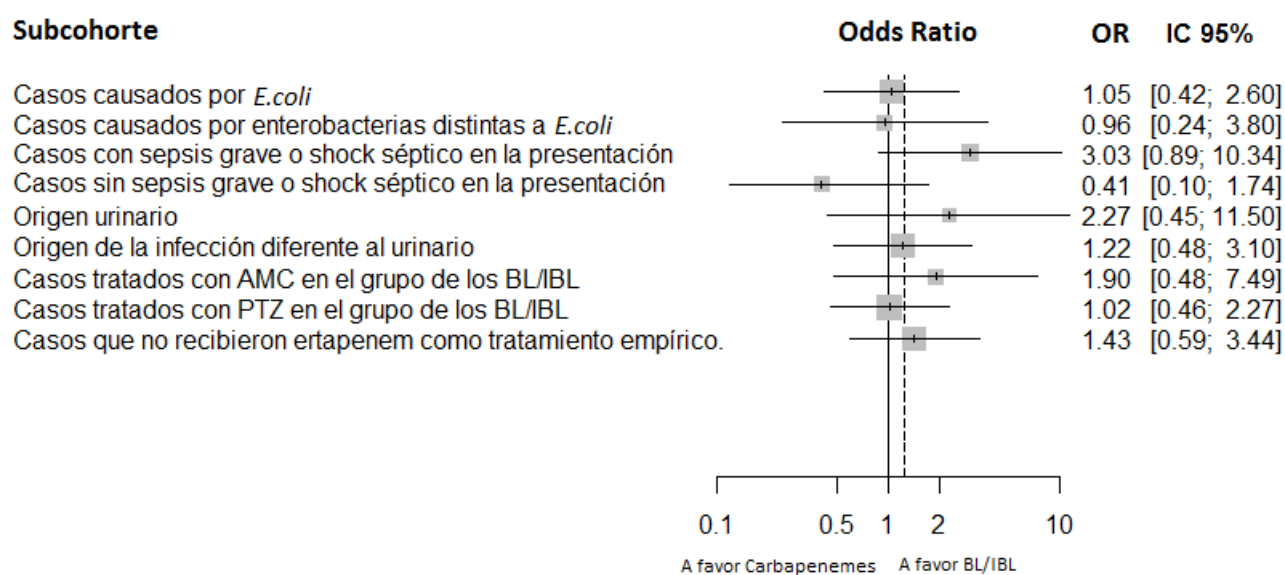
<sup>a</sup> Resultados resaltados en negrita si valor de p<0.05



Finalmente, se realizó un análisis de sensibilidad evaluando las tasas de curación y mejoría a 14 días para evaluar la consistencia de la odds ratio obtenida en nuestro modelo. Para ello, se realizó una regresión logística multivariante para cada una de las siguientes subcohortes:

1. Casos causados por *E. coli*.
2. Casos causados por enterobacterias distintas a *E. coli*.
3. Origen urinario.
4. Origen de la infección diferente al urinario.
5. Casos sin sepsis grave o shock séptico en la presentación.
6. Casos con sepsis grave o shock séptico en la presentación.
7. Casos tratados con amoxicilina/ácido clavulánico en el grupo de los BL/IBL.
8. Casos tratados con piperacilina/tazobactam en el grupo de los BL/IBL.
7. Casos que no recibieron ertapenem como tratamiento empírico.

Los datos se muestran en la Figura 3. Se aprecia que la terapia empírica con carbapenemes no se asoció con un mejor resultado en comparación con BL/IBL para ninguna de estas subcohortes.



AMC: amoxicilina/clavulánico

PTZ: piperacilina/tazobactam

**Figura 3. Análisis de sensibilidad para curación y mejoría a los 14 días.**

Como se aprecia en el modelo multivariante (tabla 8), otras variables distintas al tratamiento con BL/IBL o carbapenem sí están relacionadas con la curación/mejoría. Así, la edad, un origen de la infección distinto del urinario o biliar, la presentación de la infección con sepsis severa o shock séptico, la mayor puntuación de McCabe o el Índice de Pitt, son predictoras independientes de la curación/mejoría a los 14 días en la cohorte de tratamiento empírico.

### Modelo predictivo de curación y mejoría a 14 días en la cohorte de tratamiento empírico

Si construimos un modelo predictivo en el que sólo se mantienen las variables significativas (eliminando las variables relacionadas con el tratamiento, incluido el índice de propensión), tendríamos la siguiente tabla:

PREDICTORA	Abreviatura	MODELO PREDICTIVO OBTENIDO			
		$\beta$	OR	IC al 95%	P
<b>Constante</b>	-	5.1	-	-	-
<b>Edad</b>	edad	-0.02	0.98	0.96-1.00	0.04
<b>Origen alto riesgo*</b>	altriesg	-1.2	0.31	0.15-0.60	0.0007
<b>Clasificación de McCabe</b>	McCabe	-0.6	0.57	0.38-0.87	0.009
<b>Índice de Pitt</b>	Pitt	-0.2	0.79	0.70-0.89	0.0002
<b>Sepsis Severo o Shock</b>	Shock	-1.3	0.26	0.13-0.52	0.0002

\*No urinario ni biliar

Es decir, la curación/mejoría a 14 días se relacionaría con las siguientes variables predictoras de forma significativa según esta fórmula:

Logit P (curación/mejoría a 14 días)= +5.1 + (-0.02\*edad) + (-1.2\*altriesgo) + (-0.6\*McCabe) +(-0.2\*Pitt) + (-1.3\*shock)

Con este modelo obtenido de la cohorte de tratamiento empírico podemos estimar las probabilidades de curación/mejora a los 14 días que tendría un paciente. Así, y a modo de ejemplo, supongamos dos pacientes con bacteriemias por enterobacteria productoras de BLEE que hayan sido tratados empíricamente con un BL/IBL o un carbapenem: Un primer paciente de 35 años, con un origen de la infección urinario, un índice de McCabe de 0 (no fatal), un índice de Pitt de 1 y sólo sepsis. Por otro lado, un segundo paciente de 65 años, con un origen de la infección abdominal, un McCabe de 1 (últimamente fatal), índice de Pitt de 3 con sepsis grave.

La probabilidad que tiene el paciente 1 de curación o mejoría a los 14 días es de:

$$P = \frac{e^{(5.1 - 0.02 \cdot 35 - 0.2 \cdot 1)}}{1 + e^{4.2}} = \frac{e^{4.2}}{1 + e^{4.2}} = 0.985$$

Es decir, tiene una probabilidad del 98.5%.

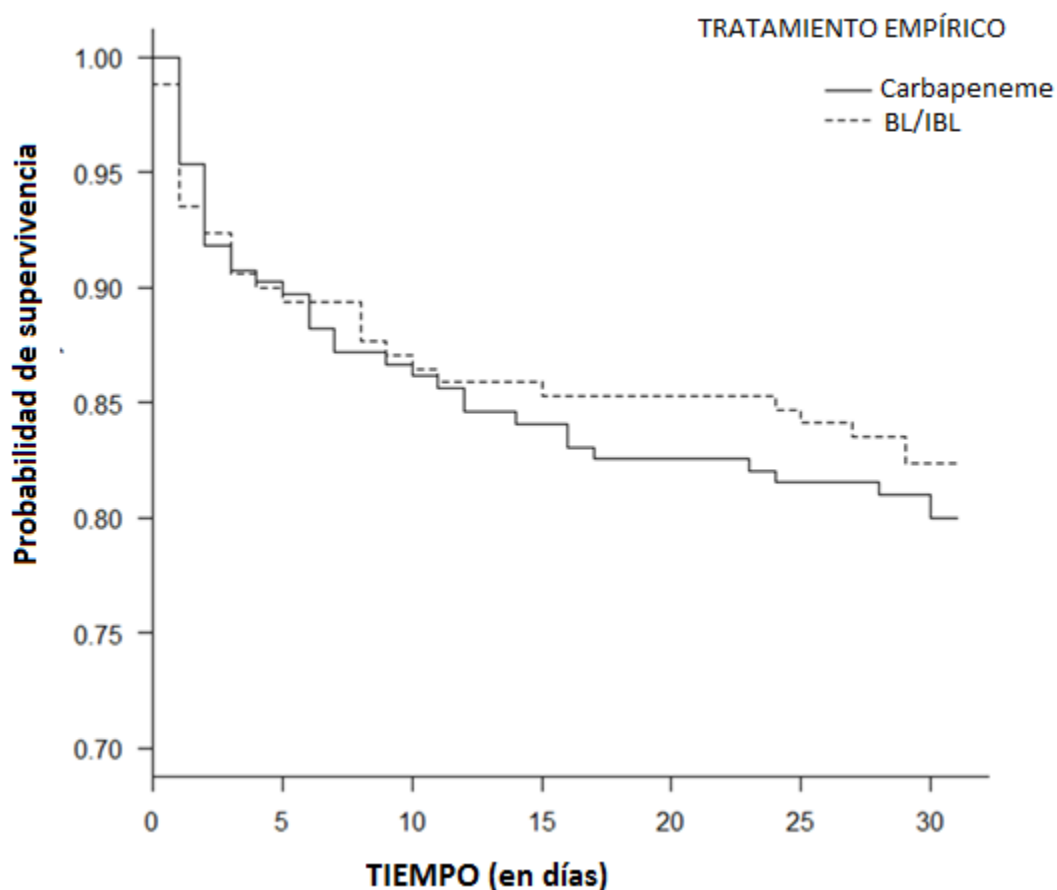
Por otro lado, la probabilidad que tiene el paciente 2 de curación o mejora a 14 días es de:

$$P = \frac{e^{(5.1 - 0.02 \cdot 65 - 0.6 \cdot 1 - 0.2 \cdot 3 - 1.3 \cdot 1)}}{1 + e^{1.3}} = \frac{e^{1.3}}{1 + e^{1.3}} = 0.786$$

Es decir, tiene una probabilidad del 78.6% de curación o mejora a 14 días.

## 2.4 MORTALIDAD

La tasa cruda de mortalidad de los pacientes tratados con un BL/IBL respecto de los tratados con un carbapeneme fue de un 11.2% frente a un 12.8 % (mortalidad a 7 días), de un 12.4% contra un 15.4% (mortalidad a 14 días), y de un 17.6% contra un 20.0% (mortalidad a 30 días), respectivamente ( $p=0.63$ , 0.4 y 0.57, respectivamente, para todas las comparaciones por test de Chi-cuadrado-  $\chi^2$ -;  $P=0.6$  para el log-rank test, ver Figura 4). En las curvas de Kaplan-Meier se aprecia una evolución de la mortalidad proporcional hasta poco después del día 10, pero no posteriormente.



**Figura 4. Curvas de Supervivencia de Kaplan Meier en el tratamiento empírico: BL/IBL vs carbapenemes**

Las tasas de mortalidad a 30 días fueron del 21.3% (26 de 123 pacientes) para los tratados con piperacilina/tazobactam y del 8.9% (4 de los 45 pacientes) de los tratados con amoxicilina/ácido clavulánico ( $p = 0.07$ , tanto con el test de Fisher como en el test de  $\chi^2$ ). En la Tabla 9 se incluye la mortalidad a 30 días según la CMI de la amoxicilina/ácido clavulánico y piperacilina/tazobactam.

**Tabla 9. Mortalidad a 30 días en pacientes que recibieron Tratamiento Empírico con un BL/IBL, de acuerdo a la Concentración Mínima Inhibitoria del antimicrobiano suministrado<sup>a</sup>**

ANTIMICROBIANO	Concentración Mínima Inhibitoria, mg/L					
	$\leq 1$	2	4	8	16	32-64
Amoxicilina/ácido clavulánico (45 casos)		0/1 (0%)	2/9 (22%)	1/26 (4%)	1/9 (11%)	
Piperacilina/tazobactam (123 casos)	1/3 (33%)	1/3 (33%)	5/31 (16%)	5/34 (15%)	8/33 (24%)	6/19 (32%)

<sup>a</sup> Los datos presentados corresponden a nº de muertos/nº total de pacientes tratados.

En los carbapenemes las tasas de mortalidad fueron del 24.2% (31 de 128 pacientes) para los tratados con meropenem, del 20% (7 de 35) para los tratados con imipenem y del 3.1% (1 de 32) para los tratados con ertapenem ( $p=0.12$ , según el test de Fisher, si se compara la mortalidad con ertapenem frente a la mortalidad con otros carbapenemes).

Se analizó la asociación univariante de distintas variables explicativas en la mortalidad resultados con la mortalidad a los 14 y 30 días (Tablas 10 y 11).

Tras el análisis univariante se realizaron sendos modelos de regresión logística multivariante para analizar las variables que podrían estar asociadas con la mortalidad a los 14 y 30 días. Además de estas posibles variables confusoras (edad, sexo, tipo de enterobacteria, adquisición, área de hospitalización, origen de la infección de alto riesgo-distinto al urinario o biliar, sepsis severa o shock séptico en la presentación, puntuación de McCabe, índices de Pitt y Charlson, y, finalmente, el tratamiento definitivo con BL/IBL, carbapenem u otro), se incluyó en los modelos (para mortalidad 14 y a 30 días) el índice de propensión.

Usando un método paso a paso hacia atrás, y siguiendo el criterio de información de Akaike, se seleccionó el mejor modelo para cada variable resultado. Así, la OR ajustada (IC al 95%) para el tratamiento empírico con BL/IBL en los modelos obtenidos fue de 0.73 (0.31-1.7), con  $p=0.47$  para la mortalidad a 14 días; y de 0.59 (0.26-1.31), con  $p=0.20$  para la mortalidad a 30 días.

Las interacciones entre el tratamiento empírico con BL/IBL y la sepsis grave o shock séptico en la presentación, con el origen de la infección y con la especie de enterobacteria también fueron analizadas en el análisis multivariante, no incluyéndose finalmente en el modelo. Cuando se forzó en los modelos la variable "tratamiento empírico con carbapenemes u otros" no encontramos tampoco diferencias significativas (ver tablas 10 y 11).

**Tabla 10. Análisis mediante regresión logística de las variables asociadas a la mortalidad a los 14 días en la cohorte de tratamiento empírico<sup>a</sup>.**

Variable	Análisis Crudo		Análisis Ajustado	
	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
Edad, por año	1.02 (1.001-1.04)	<b>0.04</b>	1.047 (1.02-1.08)	<b>0.002</b>
Sexo varón	1.28 (0.7-2.34)	0.43		
<i>E. coli</i>	0.58 (0.31-1.08)	<b>0.08</b>		
Adquisición nosocomial	2.3 (1.28-4.25)	<b>0.006</b>	1.86(0.81-4.29)	0.14
Origen de alto riesgo (distinto del tracto urinario o biliar)	2.75 (1.53-3.05)	<b>0.0001</b>	2.65 (1.55-4.54)	<b>0.007</b>
Ingreso en UCI	2.57 (1.15-5.44)	<b>0.016</b>		
Índice de Charlson (por unidad)	1.06 (0.94-1.18)	0.31		
Clasificación de Mc Cabe (por unidad)	1.99 (1.34-2.99)	<b>&lt;0.0007</b>	1.66 (1.01-2.77)	<b>0.047</b>
Puntuación de Pitt (por unidad)	1.48 (1.32-1.67)	<b>&lt;0.0001</b>	1.31 (1.14-1.5)	<b>0.0001</b>
Sepsis grave o shock	9.54 (4.78-20.82)	<b>&lt;0.0001</b>	5.41 (2.24-14.25)	<b>0.0003</b>
<b>Tratamiento empírico con BL/IBL</b>	0.9 (0.3-1.61)	0.73	<b>0.73 (0.31-1.7)</b>	0.47
<b>Tratamiento definitivo</b>				
Carbapenem	Referencia			
Otros	1.32 (0.71-2.39)	0.37		
Índice de propensión	0.78 (0.24-2.49)	0.67	1.29 (0.25-6.63)	0.76

<sup>a</sup> Resultados resaltados en negrita si el valor de  $p < 0.05$ .



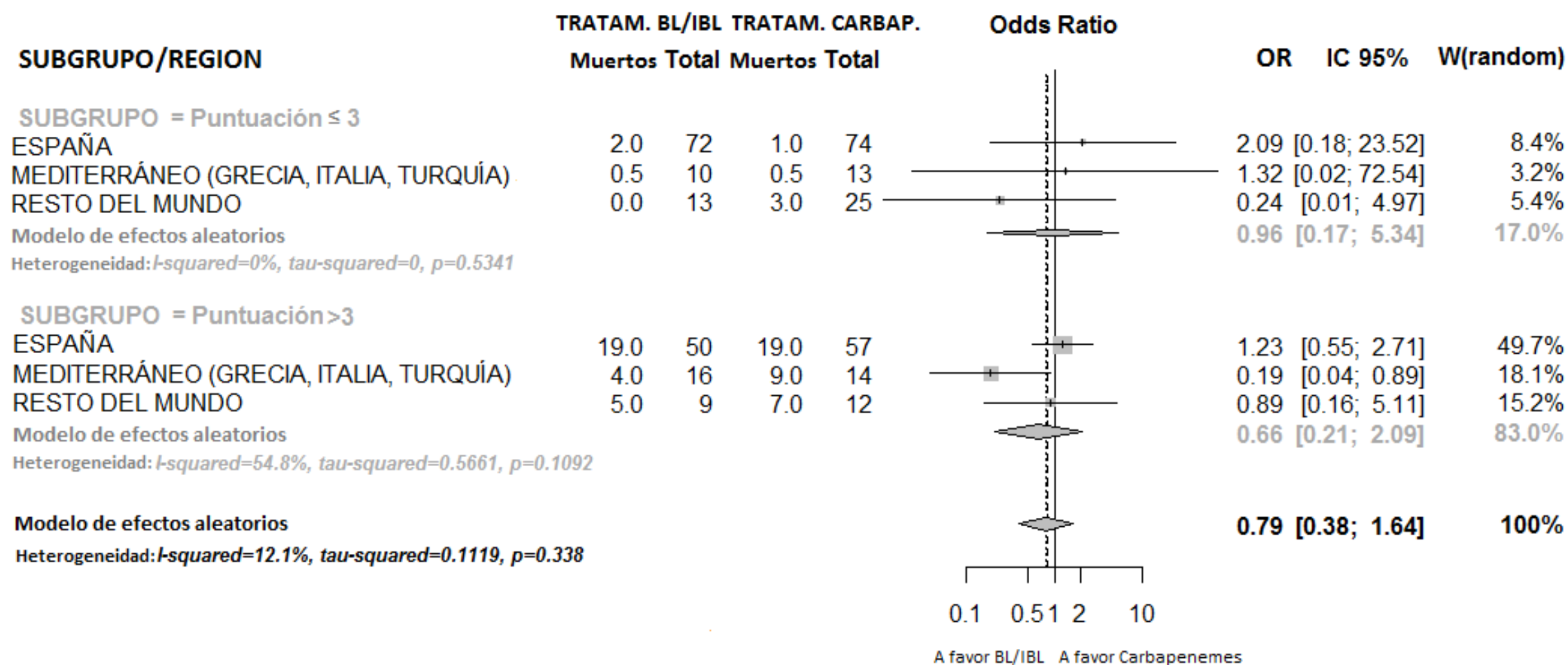
**Tabla 11. Análisis mediante regresión logística de las variables asociadas a la mortalidad a los 30 días en la cohorte de tratamiento empírico<sup>a</sup>**

Variable	Análisis Crudo		Análisis Ajustado	
	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
Edad, por año	1.025 (1.007-1.045)	<b>0.008</b>	1.055 (1.027-1.087)	<b>0.0002</b>
Sexo varón	1.24 (0.73-2.15)	0.43		
<i>E. coli</i>	0.54 (0.31-0.95)	<b>0.03</b>		
Adquisición nosocomial	1.86 (1.1-3.18)	<b>0.02</b>		
Origen de alto riesgo (distinto del tracto urinario o biliar)	2.87 (1.68-4.97)	<b>0.0001</b>	4.98 (2.37-10.96)	<b>&lt;0.0001</b>
Ingreso en UCI	2.43 (1.15-4.97)	<b>0.016</b>		
Índice de Charlson (por unidad)	1.12 (1.02-1.24)	<b>0.018</b>		
Clasificación de McCabe (por unidad)	2.13 (1.48-3.09)	<b>&lt;0.0001</b>	1.79 (1.11-2.94)	<b>0.018</b>
Puntuación de Pitt (por unidad)	1.49 (1.33-1.68)	<b>&lt;0.0001</b>	1.3 (1.13-1.50)	<b>0.0002</b>
Sepsis grave o shock	11.82 (6.22-24.17)	<b>&lt;0.0001</b>	7.42 (3.23-18.33)	<b>&lt;0.0001</b>
<b>Tratamiento empírico con BL/IBL</b>	0.86 (0.5-1.45)	0.57	<b>0.59 (0.26-1.31)</b>	0.20
<b>Tratamiento definitivo</b>				
Carbapenemes	Referencia			
Otros	1.28(0.73-2.2)	0.38		
Índice de propensión	0.87 (0.3-2.5)	0.80	1.26 (0.26-6.23)	0.77

<sup>a</sup> Resultados resaltados en negrita si el valor de p<0.05.

El meta-análisis de datos individuales realizado en la CTE conforme a lo indicado en el apartado de Métodos, mostró resultados similares (Figura 5). Así, la relación entre la mortalidad a 30 días y un tratamiento empírico con un carbapenem o un BL/IBL no fue significativa para ninguno de los dos subgrupos (puntuación  $\leq 3$  y  $> 3$ , alto y bajo riesgo de mortalidad a 30 días): OR=0.96 (IC 95%: 0.17-5.34) y OR=0.66 (IC 95% 0.21-2.09), respectivamente, del tratamiento con un BL/IBL frente a un carbapenem. La OR del modelo de efectos aleatorios total fue de 0.79 (IC 95%: 0.38-1.64) con una heterogeneidad  $I^2$  del 12.1% (valores inferiores al 30% se consideran de heterogeneidad baja). Comprobándose así, que el efecto del centro no afecta a los resultados obtenidos.

**Figura 5. Meta-análisis de datos individuales mediante un modelo de efectos aleatorios de las Odds Ratio asociadas a la mortalidad a los 30 días en función del subgrupo y área geográfica en la cohorte de tratamiento empírico**



Por tanto, aunque en el modelo finalmente resultante el tipo de tratamiento empírico administrado (BL/IBL o carbapenem) no está relacionado significativamente con las mortalidades a 14 y 30 días en las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE, sí se observan otras variables que sí lo están. Así, tanto para la mortalidad a 14 días como para la mortalidad a 30 días, la edad, un origen de la infección de alto riesgo (distinto al urinario o biliar), la presentación de la infección con sepsis grave o shock séptico, la puntuación de McCabe o el Índice de Pitt, están significativamente e independientemente relacionadas con la mortalidad en la cohorte de tratamiento empírico, es decir, son variables predictoras de mortalidad.

## 2.5 ESTANCIA HOSPITALARIA

La estancia media hospitalaria posterior a la bacteriemia fue de 12.5 días (rango intercuartílico [RIC], 7-21.75) y de 13 días (RIC, 7-23) días para los pacientes que recibieron tratamiento empírico con BL/IBL o carbapenemes, respectivamente ( $P = 0.31$ , test de U-Mann Whitney). El tratamiento empírico con BL/IBL con respecto a los carbapenemes no mostró una asociación significativa con una mayor duración de la estancia hospitalaria (considerado como el tiempo desde el hemocultivo hasta el alta) después de controlar por el índice de propensión en un modelo de regresión lineal ( $p = 0.64$ ).

### 3 COHORTE DE TRATAMIENTO DEFINITIVO

#### 3.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES SEGÚN TIPO DE TRATAMIENTO

De los 601 pacientes incluidos en la CTD, 92 recibieron de tratamiento definitivo un BL/IBL (60 piperacilina/tazobactam, 32 amoxicilina/ácido clavulánico), y 509 un carbapenem (205 ertapenem, 185 meropenem, 118 imipenem y 1 doripenem).

En esta cohorte, la distribución de episodios por enterobacterias fue: *E. coli* (439, 73.04%); *K. pneumoniae*, 114 (18.97%), *E. cloacae*, 31 (5.16%); *P. mirabilis* 4, (0.67%) y otras, 13 (2.16%).

Fueron caracterizados por PCR 199 casos (33.1%). Las BLEEs más frecuentes producidas por los aislados fueron las enzimas CTX-M en 152 casos, 76.4% (38 CTX-M-15, 27 CTX-M-1, 26 CTX-M-14, 21 CTX-M-9, 2 CTX-M-2, 1 CTX-M-1 y 37 casos sin especificar); SHV en 22 casos (11.05%) y enzima TEM (25 casos, 12.6%).

Un 77.17% de los tratados con BL/IBL fueron *E. coli* y 14.13% eran *K. pneumoniae*. En el grupo de los carbapenemes, el 72.3% era *E. coli* y un 19.84% eran *K. pneumoniae*. La distribución de los tratados con BL/IBL frente a carbapenemes en la CTD fueron: enzima CTX-M, 11 BL/IBL vs 141 carbapenemes; enzima SHV, 6 BL/IBL vs 16 carbapenemes; y enzima TEM, 7 BL/IBL vs 18 carbapenemes.

Respecto a las dosis recibidas, los pacientes de cada grupo recibieron por vía intravenosa principalmente (o su equivalente ajustado en caso de fallo renal): para piperacilina/tazobactam, 4000 mg/6h (40%) y 4000 mg/8h (43.3%); para la amoxicilina/ácido clavulánico, 1000 mg/8h (59.4%) y 2000mg/8h (12.5%); para imipenem 500 mg/6h (49.15%) y 500 mg/8h (20.33%); para el meropenem: 1g/8h (50.8%), 1g/12h (15.1%) y 1g/24h (9.2%); para ertapenem 1g/24 h (84.3%).

Las características de los pacientes por tipo de tratamiento definitivo (BL/IBL o carbapenem) se muestran en la Tabla 12:

**TABLA 12. Características de los pacientes con bacteriemias causadas por enterobacterias productoras de BLEE según el tratamiento definitivo recibido, en la cohorte de tratamiento definitivo<sup>a</sup>.**

	Cohorte de tratamiento definitivo		
	BL/IBL (n=92)	Carbapenem (n=509)	p
Edad en años, mediana (RIC)	70.5 (56-80)	68 (56-78)	0.22 <sup>b</sup>
Sexo varón	55 (59.8%)	295 (58%)	0.74
Enterobacterias			
<i>E. coli</i>	71 (77.2%)	368 (72.3%)	0.33
<i>K. pneumoniae</i>	13 (14.1 %)	101 (19.8%)	0.20
Otros	8 (8.7%)	40 (7.9%)	0.78
Adquisición Nosocomial	38 (41.3%)	247 (48.52%)	0.2
Origen			
Urinario	39 (42.4%)	233 (45.8%)	0.55
Biliar	9 (9.8%)	62 (12.2%)	0.51
Otros	44 <sup>c</sup> (47.8%)	214 <sup>d</sup> (42%)	0.30
Cancer <sup>e</sup>	38 (43.2%)	208 (42.2%)	0.86
Ingreso en UCI	4 (4.4%)	62 (12.4%)	0.02
Charlson, mediana (RIC)	2 (1-6)	2 (1-4)	0.29 <sup>b</sup>
McCabe, mediana (RIC)	0 (0-1)	0 (0-1)	0.95 <sup>b</sup>
Pitt score, mediana (RIC)	1 (0-2)	1 (0-2)	0.19 <sup>b</sup>
Sepsis grave o shock séptico	31 (33.7%)	164 (33.3%)	0.94
<b>Tratamiento empírico</b>			

Carbapenem	4 (4.34%)	141 (27.7%)	<b>&lt;0.0001</b>
BL/IBL	56 (60.9%)	140 (27.5%)	<b>&lt;0.0001</b>
Otros	32 (34.8 %)	228 (44.8%)	0.07
Tratamiento Empírico activo	65 (70.7%)	304 (59.7%)	0.047
<b>Tasa de curación/ mejoría</b>			
Día 7	81 (88%)	436 (85.7%)	0.54
Día 14	83 (90.2%)	435 (85.5%)	0.22
<b>Mortalidad</b>			
Día 7	4 (4.31%)	25 (4.91%)	0.82
Día 14	5 (5.43%)	52 (10.02%)	0.15
Día 30	9 (9.78%)	71 (13.95%)	0.28
Estancia hospitalaria, en días, mediana (RIC)	10 (7-18.5)	15 (10-24)	<b>&lt;0.0001<sup>b</sup></b>

<sup>a</sup> Excepto donde se especifique, los datos incluidos son N°. (%) de pacientes. El valor de P se ha calculado por test  $\chi^2$ , excepto donde se especifique. RIC, rango intercuartílico. Resultados resaltados en negrita si el valor de  $p < 0.05$ .

<sup>b</sup> U-Mann Whitney test.

<sup>c</sup> Intraabdominal: 17; desconocido: 13; vascular: 6; piel y partes blandas: 3.

<sup>d</sup> Desconocido: 74; intraabdominal: 51; vascular: 33; respiratorio: 26; piel y partes blandas: 15; otros: 15.

<sup>e</sup> No se exponen datos de otras enfermedades de base al no haber diferencias significativas.



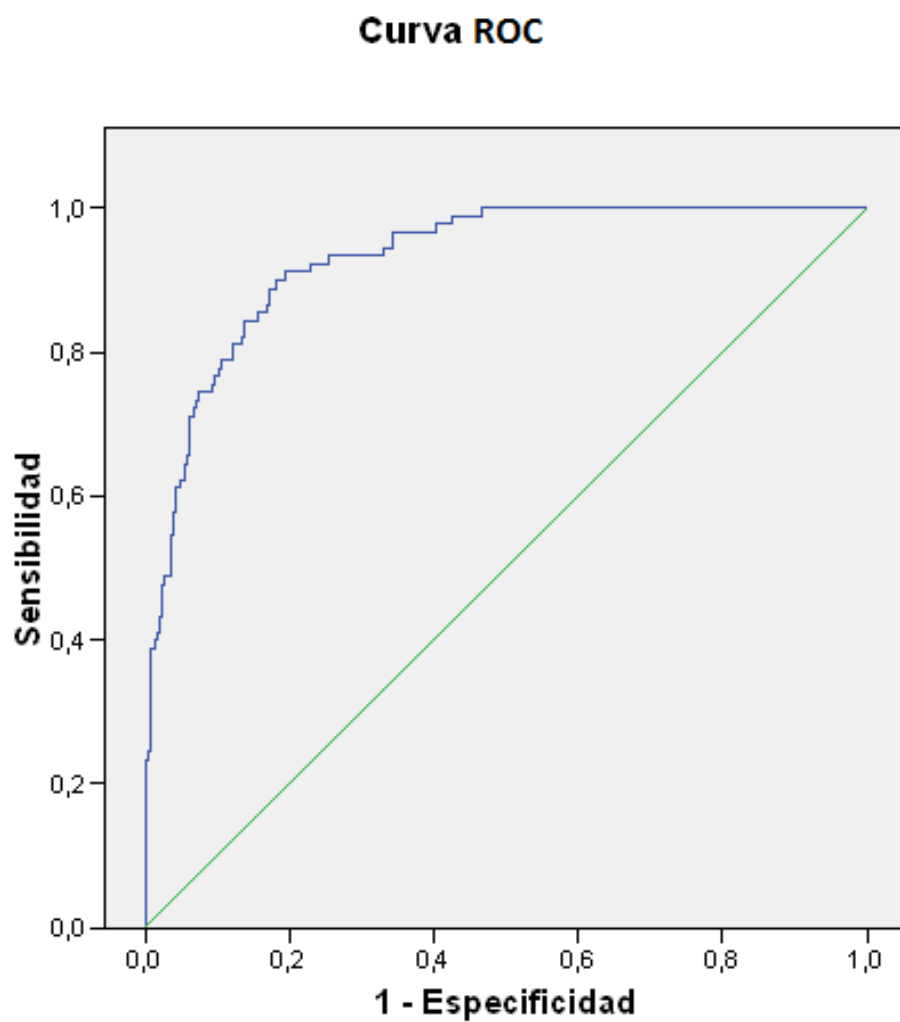
### 3.2 ÍNDICE DE PROPENSIÓN

De forma previa a estudiar la relación de las variables principales de resultado con el tipo de tratamiento definitivo administrado, se calculó (para añadir posteriormente al modelo multivariante) el índice de propensión -la probabilidad de recibir un carbapenem como tratamiento definitivo- utilizando un modelo de regresión logística multivariante no parsimonioso en el que la variable resultado era el uso de un carbapenem como tratamiento definitivo.

Se incorporaron las siguientes variables al modelo: el centro al que pertenecía el caso incluido, la edad, el sexo, el tipo de adquisición, el área de hospitalización, el origen de la infección, la severidad de la infección el índice de PITT, la puntuación de McCabe, la existencia o no de cáncer, diabetes mellitus, insuficiencia renal, enfermedad cardíaca o hepática, la inmunosupresión del paciente, si el tratamiento empírico administrado fue apropiado y si el tratamiento empírico continuó como definitivo.

El modelo finalmente resultante tuvo una  $p=0.84$  en la prueba de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow y un área bajo la curva ROC de 0.93 (Figura 6), mostrando, por tanto, una muy buena capacidad predictiva.

Este índice de propensión se incluyó como una variable siempre fija en los modelos multivariantes para analizar la cura y mejoría, mortalidad y estancia hospitalaria en la cohorte definitiva.



**Figura 6. Curva ROC del modelo predictivo calculado para el índice de propensión en la CTD**

### 3.3 CURACIÓN Y MEJORÍA A 14 DÍAS

La tasa cruda de curación y mejoría a los 14 días de los pacientes tratados con un BL/IBL fue de un 90.2 %, mientras que para los tratados con un carbapenem fue del 85.5% (diferencia absoluta 4.7%, IC 95%:-2.0%, 12.6%;  $p=0.22$  por el test de  $\chi^2$ ). Las tasas de cura y mejoría a los 14 días fueron del 86.74% (52 de 60 pacientes) para los tratados con piperacilina/tazobactam y del 96.8% (31 de los 32 pacientes) de los tratados con amoxicilina/ácido clavulánico ( $p = 0.12$ , prueba de  $\chi^2$ ). En la Tabla 13 se incluye la curación y mejoría según la CMI de la amoxicilina/ácido clavulánico y piperacilina/tazobactam.

**Tabla 13. Tasas de curación y mejoría a los 14 días en pacientes que recibieron Tratamiento definitivo con un BL/IBL de acuerdo a la concentración mínima inhibitoria del antimicrobiano suministrado<sup>a</sup>**

Concentración Mínima Inhibitoria, mg/L						
ANTIMICROBIANO	≤1	2	4	8	16	32
Amoxicilina/ácido clavulánico (32 casos)		1/1 (100%)	14/15 (93%)	15/15 (100%)	1/1 (100%)	
Piperacilina/tazobactam (60 casos)	1/1 (100%)	3/4 (75%)	16/19 (84%)	16/18 (89%)	16/18 (89%)	

<sup>a</sup> Los datos presentados corresponden a nº de pacientes con cura y mejoría a 14 días/nº total de pacientes tratados.

En carbapenemes, las tasas de cura y mejoría en el día 14 las tasas fueron del 81.08% (150 de 185 pacientes) para los tratados con meropenem, del 84.74% (100/118) para imipenem y del 89.75% (184/205) de los pacientes tratados con ertapenem ( $p = 0.02$  por el test de  $\chi^2$ , comparando la tasa de curación y mejoría en el día 14 del ertapenem vs la tasa de curación o mejoría de otros carbapenemes).

Se analizó la asociación univariante de aquellas variables de interés pronóstico con la curación/mejoría (Tabla 14).

Tras el análisis univariante se incluyeron en los modelos de regresión logística multivariante las variables que podrían estar asociadas con la curación y mejoría en el día 14, además de nuestra variable principal en estudio, el tratamiento definitivo con BL/IBL o carbapenemes. Estas variables fueron: edad, sexo, tipo de enterobacteria, adquisición, área de hospitalización, origen de la infección de urinario, biliar u otro, sepsis severa o shock séptico en la presentación, puntuación de McCabe, índice de Pitt y Charlson, si el tratamiento empírico fue un carbapenem, otro antimicrobiano activo o no hubo tratamiento empírico o éste no fue activo, si el tratamiento empírico continuó como definitivo, y finalmente, el índice de propensión.

Usando el paso hacia atrás, y siguiendo el criterio de información de Akaike, se seleccionó el mejor modelo para nuestra variable resultado.

Así, el tratamiento definitivo con BL/IBL no mostró asociación significativa con la tasa de curación y mejoría a los 14 días con respecto al tratamiento definitivo con carbapenemes (OR: 1.59; IC del 95%, 0.55 a 5.12;  $P = 0.41$ ; ver Tabla 14).

Las interacciones entre el tratamiento definitivo con BL/IBL y la sepsis severa o shock séptico en la presentación; así como el origen de la infección y el tipo de enterobacteria también fueron analizadas en el análisis multivariante, no incluyéndose finalmente en el modelo. Cuando se excluyó en el modelo la variable "tratamiento empírico con carbapenem, otro agente activo (incluyendo un BL/IBL) u otro inactivo/sin tratamiento empírico", no se encontraron tampoco diferencias significativas. Tampoco se encontraron diferencias cuando se forzó en el modelo la variable "Centro al que pertenece el caso".

**Tabla 14. Análisis mediante regresión logística de las variables asociadas a curación/mejoría a los 14 días en la Cohorte de Tratamiento Definitivo<sup>a</sup>.**

Variable	Análisis Crudo		Análisis Ajustado	
	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
Edad, por año	0.99 (0.98-1.01)	0.83		
Sexo varón	1.14 (0.71-1.82)	0.58		
Enterobacterias				
<i>E. coli</i>	Referencia			
<i>K. pneumoniae</i>	0.45 (0.26-0.77)	<b>0.003</b>		
Otros	0.54 (0.25-1.25)	0.12		
Adquisición Nosocomial	0.62 (0.39-0.99)	<b>0.05</b>		
Origen				
Urinario	Referencia		Referencia	
Biliary tract	0.95 (0.39-2.67)	0.92	1.32 (0.47-4.37)	0.62
Otros	0.32 (0.19-0.54)	<b>&lt;0.0001</b>	0.37 (0.2-0.68)	<b>0.001</b>
Ingreso en UCI	0.3 (0.17-0.55)	<b>&lt;0.0001</b>		
Índice de Charlson (por unidad)	0.81 (0.74-0.88)	<b>&lt;0.0001</b>		
Clasificación de Mc Cabe (por unidad)	0.39 (0.28-0.54)	<b>&lt;0.0001</b>	0.43 (0.29-0.62)	<b>&lt;0.0001</b>
Puntuación de Pitt (por unidad)	0.73 (0.66-0.80)	<b>&lt;0.0001</b>	0.79 (0.7-0.88)	<b>&lt;0.0001</b>
Sepsis grave o shock	0.18 (0.11-0.30)	<b>&lt;0.0001</b>	0.36 (0.20-0.66)	<b>0.001</b>
<b>Tratamiento Empírico</b>				
-Carbapenem	Referencia		Referencia	
-Otro antimicrobiano activo	0.99 (0.52-1.85)	0.98	0.95 (0.43-2.06)	0.9
-No hubo tratamiento empírico o no fue activo	0.75 (0.4-1.35)	0.34	0.6 (0.28-1.22)	0.16
Tratamiento empirico continuó en Terapia definitiva	1.08 (0.64-1.91)	0.76		
<b>Trat. definitivo con BL/IBL</b>	1.57 (0.79-3.45)	0.23	<b>1.59 (0.55-5.12)</b>	0.41
Índice de propensión	1.56 (0.57-4.9)	0.41	1.08 (0.24-5.17)	0.92

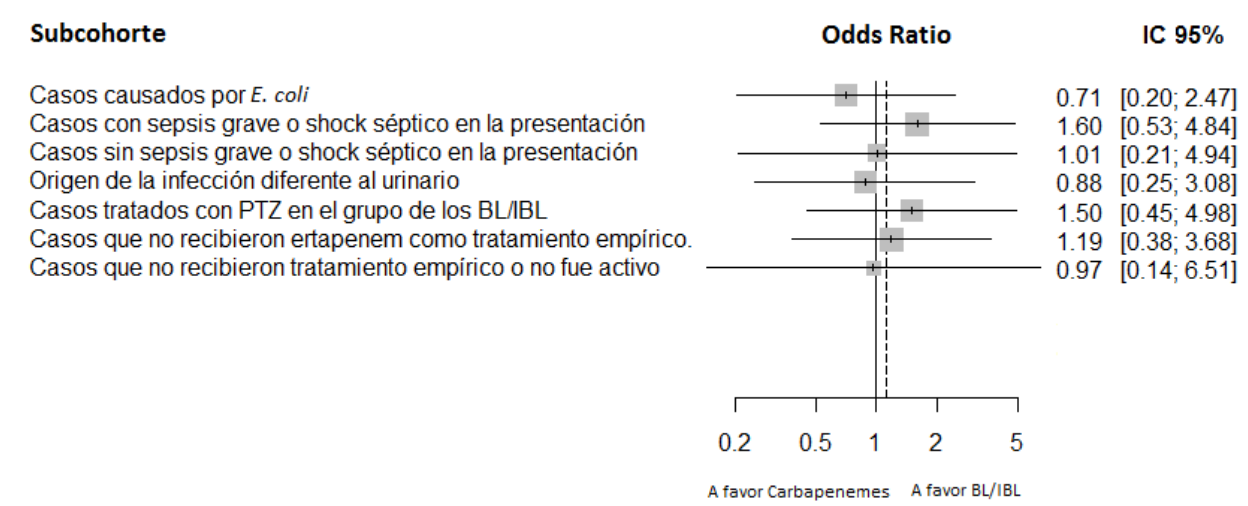
<sup>a</sup> resultados resaltados en negrita si p<0.05.

Finalmente, se realizó un análisis de sensibilidad evaluando las tasas de curación y mejoría a 14 días para evaluar la fuerza de la Odds Ratio obtenida en nuestro modelo. Para ello, se realizó una regresión logística multivariante para cada una de las siguientes subcohortes:

1. Casos causados por *E. coli*.
2. Casos con sepsis grave o shock séptico en la presentación.
3. Casos sin sepsis grave o shock séptico en la presentación.
4. Origen de la infección diferente al urinario.
5. Casos con trat. Definitivo con piperacilina/tazobactam en el grupo de los BL/IBL.
6. Casos que no recibieron ertapenem como tratamiento empírico.
7. Casos que no recibieron tratamiento empírico o éste no fue activo.

Las subcohortes "a) Casos causados por enterobacterias distintas a *E. coli*, b) Origen amoxicilina/ácido clavulánico de la infección diferente al urinario y c) Casos con tratamiento definitivo con amoxicilina/ácido clavulánico en el grupo de los BL/IBL" no se incluyeron finalmente en el análisis de sensibilidad al tener una muestra insuficiente de casos que no tuvieron curación y mejoría en el día en el grupo de los BL/IBL (< 3 casos).

Los datos se muestran en la Figura 7. Se comprueba que la terapia definitiva con carbapenemes no se asoció con un mejor resultado en comparación con BL/IBL para ninguna de estas subcohortes.



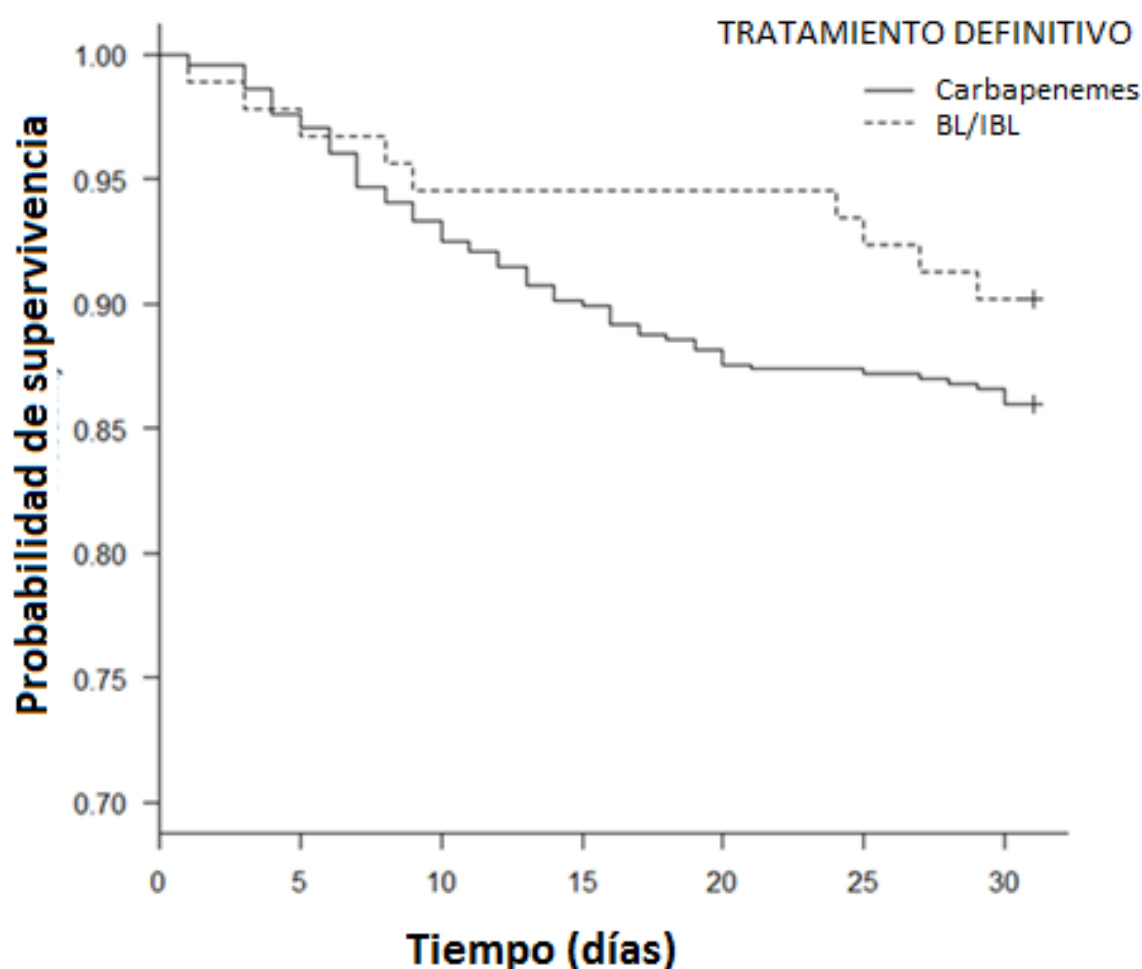
PTZ: Piperacilina/Tazobactam

**Figura 7. Análisis de sensibilidad: Cura y Mejoría a los 14 días. Odds ratio en el tratamiento definitivo con BL/IBL en comparación con carbapenemes.**

Por todo lo anterior, aunque en el modelo multivariante (Tabla 14) el tipo de tratamiento definitivo administrado (BL/IBL o carbapenem) no está relacionado significativamente con la curación y mejoría en el día 14 en las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE, sí se observan otras variables que sí lo están. Así, un origen de la infección de alto riesgo, la manifestación de infección con sepsis severa o shock séptico, la puntuación de McCabe o el Índice de Pitt, son predictoras independientes de curación/mejoría a los 14 días en la cohorte de tratamiento definitivo.

### 3.4 MORTALIDAD

La tasa cruda de mortalidad de los pacientes tratados con un BL/IBL respecto de los tratados con un carbapenema fue de un 4.31% contra un 4.91 % (mortalidad a 7 días), de un 5.43% contra un 10.02% (mortalidad a 14 días), y de un 9.78% contra un 13.95% (mortalidad a 30 días), respectivamente ( $p > 0.1$  para todas las comparaciones por test de Chi-cuadrado-  $\chi^2$ -;  $P = 0.27$  para el log-rank test, ver curva de supervivencia a continuación).



**Figura 8. Curvas de Supervivencia de Kaplan Meier en el tratamiento definitivo: BL/IBL vs carbapenemes**



Las tasas de mortalidad a 30 días fueron del 13.3% (8 de 60 pacientes) para los tratados con piperacilina/tazobactam y del 3.1% (1 de los 32 pacientes) de los tratados con amoxicilina/ácido clavulánico ( $p=0.15$ , tanto con el test de Fisher como en el test de  $\chi^2$ ). En la Tabla 15 se incluye la mortalidad a 30 días según la CMI de la amoxicilina/ácido clavulánico y piperacilina / tazobactam.

**Tabla 15. Mortalidad a 30 días en pacientes que recibieron Tratamiento Empírico con un BL/IBL, de acuerdo a la Concentración Mínima Inhibitoria del antimicrobiano suministrado<sup>a</sup>**

ANTIMICROBIANO	Concentración Mínima Inhibitoria, mg/L						
	≤1	2	4	8	16	32	64
Amoxicilina/ácido clavulánico (32 pacientes)		0/1 (0%)	1/15 (7%)	0/14 (0%)	0/1 (0%)		
Piperacilina/tazobactam (60 pacientes)	0/1 (0%)	1/4 (25%)	2/19 (11%)	3/18 (17%)	2/18 (11%)		

<sup>a</sup> Los datos presentados corresponden a nº de pacientes muertos a 30 días/nº total de pacientes tratados.

En los carbapenemes las tasas de mortalidad fueron del 17.3% (32 de 185 pacientes) para los tratados con meropenem, del 16.95% (20 de 118) para los tratados con imipenem y del 9.27% (19 de 205) para los tratados con ertapenem ( $p=0.01$ , según el test de  $\chi^2$ , si se compara la mortalidad con ertapenem frente a la mortalidad con otro carbapenem).

Se analizó la asociación univariante de distintas variables explicativas en la mortalidad resultados con la mortalidad a los 14 y 30 días (Tablas 16 y 17).

Tras el análisis univariante se incluyeron en sendos modelos de regresión logística multivariante las variables que estaban asociadas con la mortalidad a los 14 y 30 días. Además de estas posibles variables confusoras (edad, sexo, tipo de enterobacteria, adquisición, área de hospitalización, origen de la infección de urinario, biliar u otro, sepsis severa o shock séptico en la presentación, puntuación de McCabe, índice de Pitt y Charlson, si el tratamiento empírico fue un carbapenem, otro antimicrobiano activo o no hubo tratamiento empírico o éste no fue activo, si el tratamiento empírico continuó como definitivo, y finalmente, el índice de propensión), se incluyó en los modelos (para mortalidad a los 14 y a los 30 días) el índice de propensión. Usando un método de paso hacia atrás, y siguiendo el criterio de información de Akaike, se seleccionó el mejor modelo para cada variable resultado.

Así, la OR ajustada (IC al 95%) para el tratamiento definitivo con BL/IBL en los modelos obtenidos fue de 0.46 (0.10-1.69), con  $p=0.27$  para la mortalidad a 14 días; y de 0.34 (0.16-1.68), con  $p=0.31$  para la mortalidad a 30 días (ver Tablas 16 y 17).

Las interacciones entre el tratamiento definitivo con BL/IBL y la sepsis grave o shock séptico en la presentación; con el origen de la infección y con la especie de enterobacteria también fueron analizadas en el análisis multivariante, no incluyéndose finalmente en el modelo.

Cuando se excluyó en el modelo la variable "tratamiento empírico con carbapenem, otro agente activo (incluyendo un BL/IBL) u otro inactivo/sin tratamiento empíricos", no se encontraron tampoco diferencias significativas.

**Tabla 16. Análisis mediante regresión logística de las variables asociadas a la mortalidad a los 14 días en la cohorte de tratamiento definitivo<sup>a</sup>**

Variable	Análisis Crudo		Análisis Ajustado	
	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
Edad, por año	1.01 (1-1.03)	0.1	1.03 (1.005-1.05)	<b>0.018</b>
Sexo varón	1.21 (0.7-2.17)	0.5		
<i>E. coli</i>	0.45 (0.26-0.8)	<b>0.006</b>		
Adquisición nosocomial	1.25 (0.72-2.19)	0.41		
Origen de alto riesgo (distinto del urinario o biliar)	3.44 (1.93-6.38)	<b>&lt;0.0001</b>	3.71 (1.9-7.56)	<b>0.0002</b>
Ingreso en UCI	3.57 (1.8-6.8)	<b>0.0001</b>		
Índice de Charlson (por unidad)	1.21 (1.1-1.34)	<b>&lt;0.0001</b>		
Clasificación de McCabe (por unidad)	2.4 (1.66-3.52)	<b>&lt;0.0001</b>	2.25 (1.46-3.52)	<b>0.0003</b>
Puntuación de Pitt (por unidad)	1.32 (1.21-1.46)	<b>&lt;0.0001</b>	1.3 (1.14-1.48)	<b>&lt;0.0001</b>
Sepsis grave o shock	4.18 (2.37-7.59)	<b>&lt;0.0001</b>	1.82 (0.9-3.72)	0.1
Tratamiento empírico continuó como tratamiento definitivo	0.61 (0.28-1.19)	0.17		
<b>Tratamiento empírico</b>				
Carbapenem	Referencia		Referencia	
Otro antimicrobiano activo	1.25 (0.57-2.88)	0.58	1.25 (0.49-3.28)	0.64
Sin trat. Emp. o no activo	1.77 (0.86-3.97)	0.14	1.99 (0.86-4.94)	0.12
<b>Tratamiento definitivo con BL/IBL</b>	0.52 (0.17-1.21)	0.17	<b>0.46 (0.10-1.69)</b>	0.27
Índice de propensión	0.44 (0.1-1.55)	0.25	0.63 (0.08-3.93)	0.64

<sup>a</sup> resultados resaltados en negrita si  $p < 0.05$ .

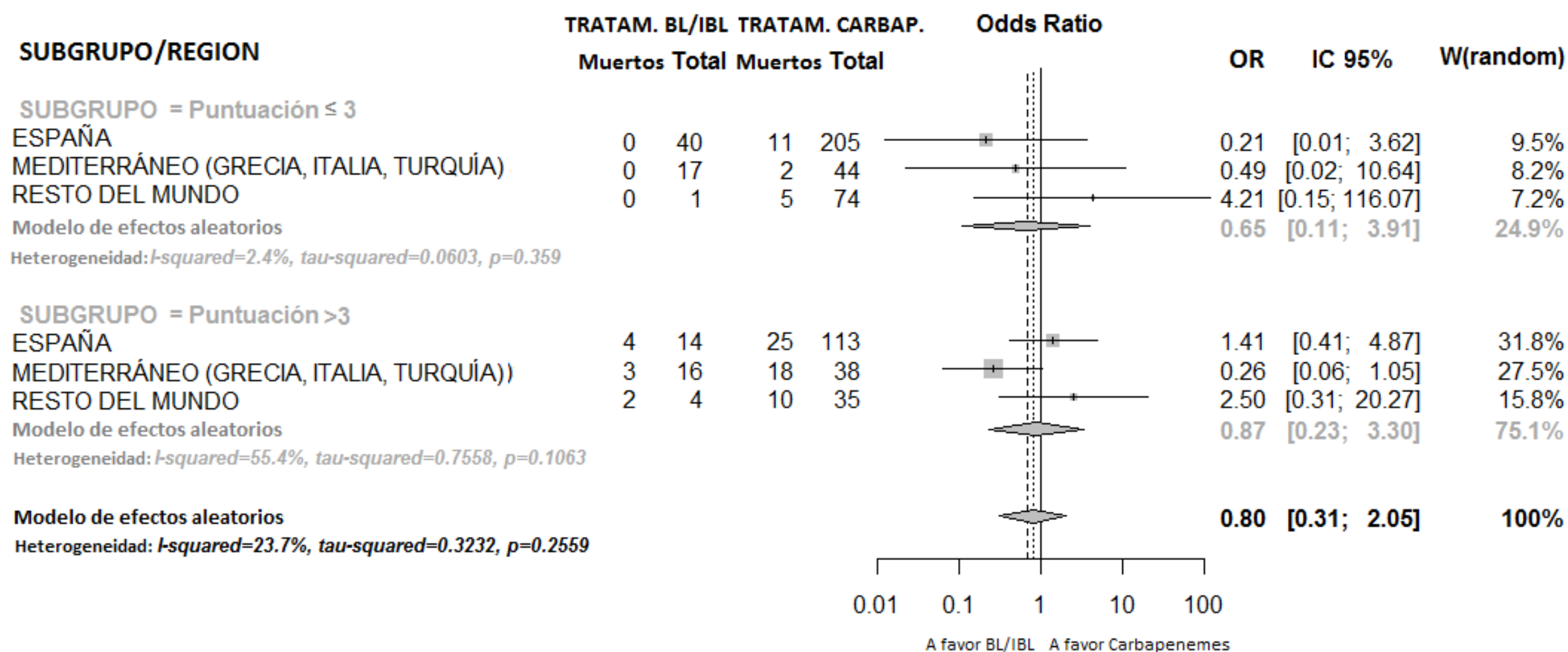
**Tabla 17. Análisis mediante regresión logística de las variables asociadas a la mortalidad a 30 días en la cohorte de tratamiento definitivo<sup>a</sup>.**

Variable	Análisis Crudo		Análisis Ajustado	
	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
Edad, por año	1.02 (1.004-1.035)	<b>0.018</b>	1.03 (1.014-1.056)	<b>0.0013</b>
Sexo varón	1.15 (0.72-1.89)	0.56		
<i>E. coli</i>	0.41 (0.25-0.67)	<b>0.0004</b>	0.54 (0.29-0.99)	<b>0.046</b>
Adquisición nosocomial	1.31 (0.82-2.11)	0.26		
Origen de alto riesgo (distinto del tracto urinario o biliar)	2.86 (1.76-4.73)	<b>&lt;0.0001</b>	3.12 (1.72-5.27)	<b>0.0002</b>
Ingreso en UCI	3.5 (1.91-6.28)	<b>&lt;0.0001</b>		
Índice de Charlson (por unidad)	1.2 (1.13-1.34)	<b>&lt;0.0001</b>		
Clasificación de Mc Cabe (por unidad)	2.67 (1.93-3.73)	<b>&lt;0.0001</b>	2.75 (1.85-4.16)	<b>&lt;0.0001</b>
Puntuación de Pitt (por unidad)	1.38 (1.26-1.51)	<b>&lt;0.0001</b>	1.31 (1.16-1.49)	<b>&lt;0.0001</b>
Sepsis grave o shock	5.7 (3.46-9.64)	<b>&lt;0.0001</b>	2.88 (1.53-5.48)	<b>0.001</b>
Tratamiento empírico continuó en terapia definitiva.	0.83 (0.46-1.43)	0.31		
<b>Tratamiento empírico</b>				
Carbapenem	Referencia		Referencia	
Otro antimicrobiano activo	1.1 (0.58-2.17)	0.77	1.3 (0.37-3.07)	0.53
Sin tratamiento empírico o no activo	1.53 (0.83-2.93)	0.18	2.06 (0.96-4.63)	0.07
<b>Tratamiento definitivo con BL/IBL</b>	0.67 (0.30-1.32)	0.28	<b>0.34 (0.16-1.68)</b>	0.31
Índice de propensión	0.75 (0.24-2.01)	0.59	1.027 (0.2-4.98)	0.97

<sup>a</sup> resultados resaltados en negrita si p<0.05.

El meta-análisis de datos individuales realizado en la CTD conforme a lo indicado en el apartado de Métodos, mostró resultados similares (Figura 9). Así la relación entre la mortalidad a 30 días y un tratamiento definitivo con un carbapenem o un BL/IBL no fue significativa para ninguno de los dos subgrupos (puntuación  $\leq 3$  y  $> 3$ , alto y bajo riesgo de mortalidad a 30 días): OR=0.65 (IC 95%: 0.11-3.91) y OR=0.87 (IC 95% 0.23-3.30), respectivamente, del tratamiento con un BL/IBL frente a un carbapenem. La OR del modelo de efectos aleatorios total fue de 0.80 (IC 95%: 0.31-2.05) con una heterogeneidad  $I^2$  del 23.7% (valores inferiores al 30% se consideran de heterogeneidad baja). Se comprueba así, que el efecto del centro no afecta a los resultados obtenidos.

**Figura 9. Metaanálisis de datos individuales mediante un modelo de efectos aleatorios de las Odds Ratio asociadas a la mortalidad a los 30 días en función del subgrupo y área geográfica en la cohorte de tratamiento definitivo**



Por tanto, aunque en el modelo finalmente resultante el tipo de tratamiento definitivo administrado (BL/IBL o carbapenem) no está relacionado significativamente con las mortalidades a 14 y 30 días en las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE, sí se observan otras variables que sí lo están.

Así, para la mortalidad a 14 días, la edad, un origen de la infección de alto riesgo (distinto al urinario o biliar), la puntuación de McCabe o el Índice de Pitt, **sí** están significativamente relacionadas con la mortalidad en la cohorte de tratamiento definitivo. Con un nivel de significación de  $p=0.10$  y  $0.12$  se encontrarían en nuestro modelo, respectivamente, la sepsis severa o shock séptico a la presentación y si el tratamiento empírico fue apropiado o no.

Para la mortalidad a 30 días, la edad, un origen de la infección de alto riesgo (distinto al urinario o biliar), la sepsis severa o shock séptico a la presentación, la puntuación de McCabe o el Índice de Pitt, sí están significativamente relacionadas con nuestra variable resultado en la cohorte de tratamiento definitivo. La variable tratamiento empírico apropiado tuvo una significación de  $p=0.07$  en el modelo ajustado.

### **3.5 ESTANCIA HOSPITALARIA**

La estancia media hospitalaria fue de 10 días (rango intercuartílico [RIC], 7-18.5) y de 15 días (RIC, 10-24) días para los pacientes que recibieron tratamiento empírico con BL/IBL o carbapenemes, respectivamente ( $P < 0.001$ , test de U-Mann Whitney). El tratamiento definitivo con BL/IBL con respecto a los carbapenemes sí mostró una asociación significativa con una mayor duración de la estancia hospitalaria (considerado como el tiempo desde el hemocultivo hasta el alta) después de controlar por el índice de propensión en un modelo de regresión lineal (6.5 días más de estancia hospitalaria -IC al 95% entre 1.01 y 12.05;  $p=0.02$ - en los que recibieron carbapeneme), después de incluir varias variables confusoras en un modelo multivariante de regresión lineal.



## 4 COHORTE DE TRATAMIENTO CONJUNTA

### 4.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES SEGÚN TIPO DE TRATAMIENTO

Como se ha indicado en el apartado de Diseño, en la cohorte de tratamiento conjunto (CTC) se incluyeron los casos resultantes de unir las CTE y CTD, y que, después de excluir los casos duplicados, cumplían los siguientes criterios de inclusión:

- a) Que tuvieran como tratamiento empírico y tratamiento definitivo, respectivamente:

**Grupo 0:** carbapenem-carbapenem;

**Grupo 1:** BL/IBL-carbapenem;

**Grupo 2:** BL/IBL - BL/IBL;

**Grupo 3:** Otros-carbapenem

**Grupo 4:** Otros- BL/IBL.

- b) Los casos que sobrevivieron al menos 72 horas después del hemocultivo. Este criterio se justifica en la necesidad de tener casos en los que se ha administrado un tratamiento definitivo tras conocerse el antibiograma (aproximadamente a las 72 horas del hemocultivo). Además, los pacientes que murieron antes de las 72 horas eran susceptibles de haberse incluido en la CT

El número total de casos incluidos en la CTC fue de 627 con la siguiente distribución:

Grupo	Tratamiento Empírico	Tratamiento Definitivo	Nº.de pacientes tratados (%del total de la cohorte)
Grupo 0	Carbapenem	Carbapenem	156 (24.9 %)
Grupo 1	BL/IBL	Carbapenem	152 (24.2 %)
Grupo 2	BL/IBL	BL/IBL	63 (10.0 %)
Grupo 3	Otros	Carbapenem	225 (35.9 %)
Grupo 4	Otros	BL/IBL	31 (4.9 %)

Las medianas de las duraciones del tratamiento definitivo fueron 11 (RIC:7-15); 10 (RIC: 8-14); 8 (RIC: 4-12); 10 (RIC: 7-14) y 8 (RIQ: 5-14) para los Grupos 0, 1, 2, 3 y 4, respectivamente.

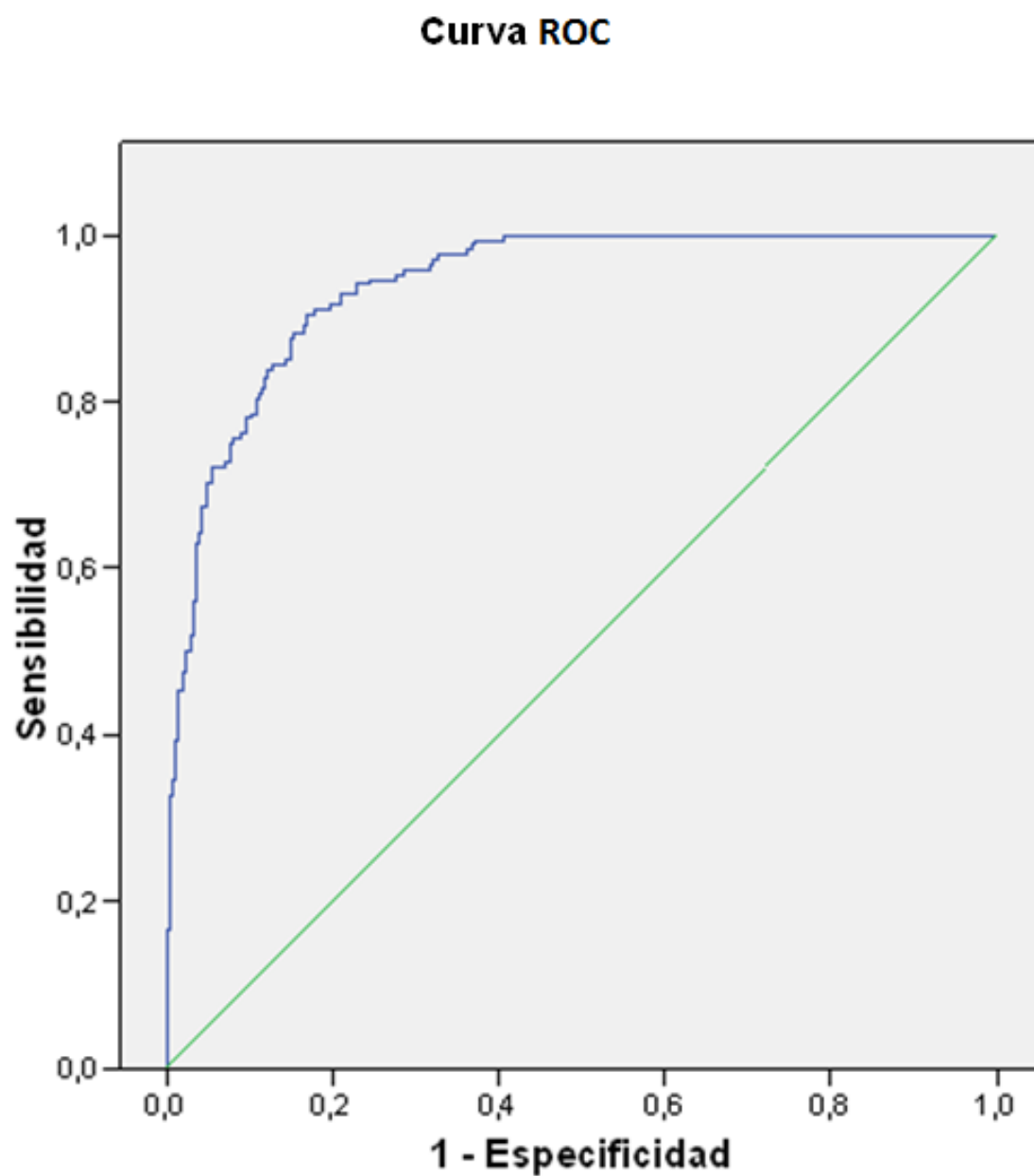
Fueron caracterizados por PCR 207 casos. Las BLEEs más frecuentes producidas por los aislados fueron las enzimas CTX-M en 160 casos, 77.3 % (42 CTX-M-15, 27 CTX-M-1, 31 CTX-M-14, 18 CTX-M-9, 2 CTX-M-2, 1 CTX-M-1 y 39 casos sin especificar tipo enzima CTX-M); SHV en 22 casos (10.6%) y enzima TEM (25 casos, 12.1%).

## **4.2 ÍNDICE DE PROPENSIÓN**

Para el cálculo del índice de propensión -la probabilidad de recibir carbapenemes como tratamiento empírico y definitivo- se incorporaron las siguientes variables al modelo: el centro al que pertenecía el caso incluido, la edad, el sexo, el tipo de adquisición, el área de hospitalización, el origen de la infección, la severidad de la infección el índice de PITT, la puntuación de McCabe, la existencia o no de cáncer, diabetes mellitus, insuficiencia renal, enfermedad cardíaca o hepática, la inmunosupresión del paciente, si el tratamiento empírico administrado fue apropiado y si el tratamiento empírico continuó como definitivo.

El modelo finalmente resultante tuvo una  $p=0.94$  en la prueba de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow y un área bajo la curva ROC de 0.94 (Figura 10), mostrando, por tanto, una muy buena capacidad predictiva.

Este índice de propensión se incluyó como una variable siempre fija en los modelos multivariantes.



**Figura 10. Curva ROC del modelo predictivo calculado para el índice de propensión en la CTC**

### 4.3 CURACIÓN Y MEJORÍA A 14 DÍAS

En nuestra cohorte conjunta, las tasas de curación y mejoría a los 14 días fueron de 137 pacientes (87.8%) para los que recibieron tratamiento empírico y definitivo con un carbapenem, 130 (85.5%) para los que recibieron tratamiento empírico con un BL/IBL y definitivo con un carbapenem, 55 (87.3%) para los que recibieron tratamiento empírico y definitivo con un BL/IBL; 191 (84.9%) para los que recibieron como tratamiento empírico cualquier otro antimicrobiano distinto a BL/IBL o carbapenem y como tratamiento definitivo un carbapenem; y finalmente 28 pacientes (90.3%) que recibieron como tratamiento empírico cualquier antimicrobiano distinto a BL/IBL o carbapenem y como tratamiento definitivo un BL/IBL.

Se analizó la asociación univariante de aquellas variables de interés pronóstico con la curación/mejoría (Tabla 18).

Tras el análisis univariante se incluyeron en los modelos de regresión logística multivariante las variables que podrían estar asociadas con la curación y mejoría a 14 días además de nuestra variable principal en estudio. Estas variables fueron: edad, sexo, tipo de enterobacteria, adquisición, área de hospitalización, origen de la infección de urinario, biliar u otro, sepsis severa o shock séptico en la presentación, puntuación de McCabe, índice de Pitt y Charlson, si el tratamiento empírico fue apropiado, si el tratamiento empírico continuó como definitivo, y finalmente, el índice de propensión.

Usando el método del paso hacia atrás, y siguiendo el criterio de información de Akaike, se seleccionó el mejor modelo para nuestra variable resultado.

Las interacciones fueron analizadas en el análisis multivariante, no incluyéndose finalmente en el modelo.

El modelo resultante mostró (ver Tabla 18) que un tratamiento empírico y definitivo con carbapenemes no presentaba significativamente mejores tasas de curación y mejoría a 14 días que cualquiera de los otros cuatro grupos: BL/IBL-Carbapenem; BL/IBL-BL/IBL; Otros-Carbapenem; Otros-BL/IBL

**Tabla 18. Análisis por Regresión Logística de las variables asociadas a curación/mejoría a los 14 días en la cohorte de tratamiento conjunta<sup>a</sup>**

Variable	Análisis Crudo		Análisis Ajustado	
	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
Edad, por año	0.99 (0.98-1.008)	0.48		
Sexo varón	1.17 (0.74-1.85)	0.49		
Enterobacterias				
<i>E. coli</i>	Referencia			
<i>K. pneumoniae</i>	0.55 (0.32-0.96)	<b>0.03</b>		
Otros	0.67 (0.31- 1.62)	0.34		
Adquisición Nosocomial	0.6 (0.38-0.95)	<b>0.03</b>		
Origen				
Tracto urinario	Referencia		Referencia	
Tracto biliar	0.57 (0.28-1.2)	<b>0.13</b>	0.57(0.25- 1.33)	0.18
Otros	0.37 (0.21- 0.62)	<b>0.0002</b>	0.39 (0.21-0.71)	<b>0.002</b>
Ingreso en UCI	0.37 (0.21- 0.69)	<b>0.001</b>		
Índice de Charlson (por unidad)	0.82 (0.75-0.89)	<b>&lt;0.0001</b>		
Clasificación de Mc Cabe (por unidad)	0.40 (0.29- 0.55)	<b>&lt;0.0001</b>	0.46 (0.32-0.66)	<b>&lt;0.0001</b>
Puntuación de Pitt (por unidad)	0.75 (0.69- 0.82)	<b>&lt;0.0001</b>	0.83 (0.74-0.94)	<b>0.002</b>
Sepsis grave o shock	0.17 (0.10-0.28)	<b>&lt;0.0001</b>	0.31 (0.17- 0.57)	<b>0.0001</b>
Tratamiento empírico apropiado	0.17 (0.72-1.87)	0.52		
Tratamiento empírico continuó como tratamiento definitivo.	0.98 (0.59- 1.69)	<b>0.96</b>		
<b>Tratamiento Empírico- Tratamiento Definitivo</b>				
Carbapenem- Carbapenem	Referencia		Referencia	
BL/IBL- Carbapenem	0.82 (0.42- 1.58)	0.55	0.82 (0.27- 2.42)	0.72
BL/IBL- BL/IBL	0.95 (0.40- 2.42)	0.92	1.17 (0.38- 3.91)	0.79
Otros- Carbapenem	0.78 (0.42-1.41)	0.42	0.76 (0.25- 2.2)	0.63
Otros- BL/IBL	1.29 (0.4-5.77)	0.69	1.58 (0.29-10.58)	0.61
Índice de propensión	1.41 (0.66-3.2)	0.39	0.93 (0.22-4.00)	0.92

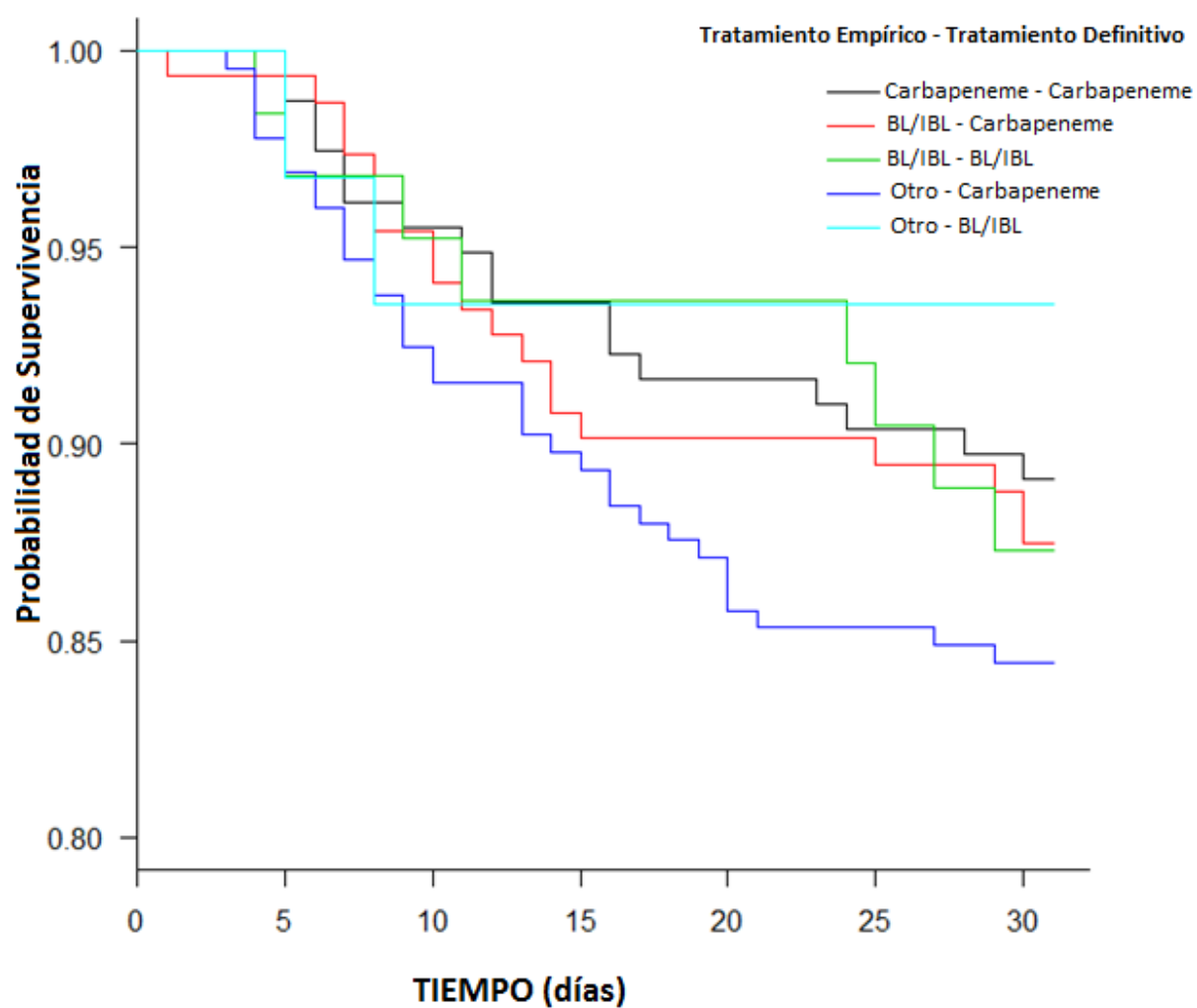
<sup>a</sup> resultados resaltados en negrita significativos si  $p < 0.05$ .

#### 4.4 MORTALIDAD

De los 627 pacientes incluidos en la CTC (ver Tabla 19), 156 recibieron tratamiento empírico y definitivo con un carbapenem (17 de ellos murieron el día 30 o antes, 10.9%); 152 recibieron tratamiento empírico con BL/IBL y terapia definitiva con un carbapenem (19 murieron el día 30 o antes, 12.5%); 63 recibieron tratamiento empírico y definitivo con BL/IBL (8 murieron, 12.5%); 225 recibieron tratamiento empírico diferente a carbapenem o BL/IBL y tratamiento definitivo con un carbapenem (35 murieron, 15.6%); finalmente, 31 recibieron tratamiento empírico diferente a carbapenem o BL/IBL y tratamiento definitivo con BL/IBL (2 muertos en el día 30, 6.5%). En la figura 11 se representan las curvas de supervivencia de Kaplan Meier ( $p=0.4$ , test de log-rank).

**Tabla 19. Mortalidad a 30 días en función del tipo de tratamiento empírico y definitivo en la cohorte de tratamiento conjunta.**

Grupo	Trat. Empírico	Tratamiento Definitivo	Nº de pacientes muertos/ Nº de pacientes tratados (%)
Grupo 0	Carbapenem	Carbapenem	17/156 (10.9 %)
Grupo 1	BL/IBL	Carbapenem	19/152 (12.5 %)
Grupo 2	BL/IBL	BL/IBL	8/63 (12.7 %)
Grupo 3	Otros	Carbapenem	35/225 (15.6 %)
Grupo 4	Otros	BL/IBL	2/31 (6.5 %)



**Figura 11. Curvas de supervivencia de Kaplan Meier en la cohorte de tratamiento conjunta.**



En el mismo sentido que para la curación y mejoría a 14 días, la mortalidad ajustada OR (IC del 95%) para el tratamiento empírico y definitivo con un carbapenem no mostró una asociación significativa con una menor mortalidad a los 14 y 30 días con respecto a cualquier otro de los cuatro grupos en los modelos obtenidos (ver tablas 20 y 21) mediante regresión logística multivariante. Las interacciones también fueron analizadas en el análisis multivariante, no incluyéndose finalmente en los modelos.

**Tabla 20. Análisis mediante regresión logística de las variables asociadas a la mortalidad a los 14 días en la cohorte de tratamiento conjunto<sup>a</sup>.**

Variable	Análisis Crudo		Análisis Ajustado	
	OR (IC 95%)	p	OR (95% CI)	p
Edad, por año	1.02 (1-1.04)	0.06	1.03(1.009-1.056)	<b>0.009</b>
Sexo varón	1.15 (0.65-2.06)	0.63	0.55(0.28-1-.12)	0.09
<i>E. coli</i>	0.53 (0.30-0.95)	0.03		
Adquisición Nosocomial	1.39 (0.80-2.46)	0.24		
Origen de alto riesgo (distinto del tracto urinario o biliar)	2.75 (1.55-5.01)	<b>0.0007</b>	2.50 (1.27-5.05)	<b>0.009</b>
Ingreso en UCI	0.37 (1.5- 5.98)	<b>0.001</b>		
Índice de Charlson (por unidad)	1.18 (1.07-1.3)	<b>0.001</b>		
Clasificación de Mc Cabe (por unidad)	2.42 (1.64-3.58)	<b>&lt;0.0001</b>	2.21 (1.41-3.51)	<b>0.0006</b>
Puntuación de Pitt (por unidad)	1.28 (1.16-1.4)	<b>&lt;0.0001</b>	1.16 (1.01-1.34)	<b>0.03</b>
Sepsis grave o shock	4.9 (2.73-9.16)	<b>&lt;0.0001</b>	2.51 (1.19- 5.41)	<b>0.016</b>
Tratamiento empírico apropiado	0.64 (0.37-1.14)	0.13		
Tratamiento empírico continuó como tratamiento definitivo.	0.73 (0.35- 1.41)	<b>0.38</b>		
<b>Tratamiento empírico- Tratamiento definitivo.</b>				
Carbapenem- Carbapenem	Referencia		Referencia	
BL/IBL- Carbapenem	1.66 (0.70- 4.09)	0.26	1.31 (0.33- 5.55)	0.71
BL/IBL- BL/IBL	1.11 (0.29- 3.54)	0.87	0.57 (0.08- 2.78)	0.52
Otros- Carbapenem	2.04 (0.96-4.74)	0.08	1.97 (0.52- 8.18)	0.33
Otros- BL/IBL	1.13 (0.17-4.66)	0.88	0.62 (0.05-4.94)	0.67
Índice de propensión	0.34 (0.10-0.96)	0.06	0.89 (0.12-6.19)	0.91

<sup>a</sup> resultados resaltados en negrita si p<0.05.

**Tabla 21. Análisis mediante regresión logística de las variables asociadas a la mortalidad a los 30 días en la cohorte de tratamiento conjunto<sup>a</sup>.**

Variable	Análisis Crudo		Análisis Ajustado	
	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
Edad, por año	1.023 (1.008-1.04)	0.004	1.04 (1.02-1.066)	<b>0.0001</b>
Sexo varón	1.19 (0.74-1.94)	0.47		
<i>E. coli</i>	0.49 (0.30-0.81)	0.004	0.53 (0.29-0.99)	0.045
Adquisición nosocomial	1.38 (0.86-2.21)	0.18		
Origen de alto riesgo (distinto del tracto urinario o biliar)	2.48 (1.55-4.01)	<b>0.0002</b>	2.60 (1.43-4.78)	<b>0.002</b>
Ingreso en UCI	2.95 (1.58- 5.31)	<b>0.0004</b>		
Índice de Charlson (por unidad)	1.21 (1.11-1.31)	<b>&lt;0.0001</b>		
Clasificación de Mc Cabe (por unidad)	2.67 (1.93-3.73)	<b>&lt;0.0001</b>	2.74 (1.84-4.17)	<b>&lt;0.0001</b>
Puntuación de Pitt (por unidad)	1.34 (1.23-1.47)	<b>&lt;0.0001</b>	1.24 (1.10-1.41)	<b>0.0007</b>
Sepsis grave o shock	6.82 (4.1-11.74)	<b>&lt;0.0001</b>	3.76 (1.97- 7.37)	<b>&lt;0.0001</b>
Tratamiento empírico apropiado	0.71 (0.44-1.15)	0.16		
Tratamiento empírico continuó en terapia definitiva	0.89 (0.50- 1.51)	0.67		
<b>Tratamiento empírico- Tratamiento definitivo.</b>				
Carbapenem-Carbapenem	Referencia		Referencia	
BL/IBL- Carbapenem	1.17 (0.58- 2.36)	0.66	0.82 (0.25- 2.70)	0.74
BL/IBL- BL/IBL	1.19 (0.46- 2.84)	0.71	0.93 (0.26- 3.02)	0.90
Otros- Carbapenem	1.51 (0.82-2.86)	0.20	1.46 (0.47- 4.66)	0.51
Otros- BL/IBL	0.56 (0.09-2.11)	0.46	0.19 (0.01-1.43)	0.14
Índice de propensión	0.44 (0.18-1.00)	0.06	0.64 (0.12-3.2)	0.59

<sup>a</sup> resultados resaltados en negrita significativos (p<0.05)

Por tanto, aunque en el modelo de la CTC finalmente resultante el tratamiento empírico y definitivo con un carbapenem no estaba relacionado significativamente con unas menores mortalidades a los 14 y 30 días con respecto a cualquier otro de los cuatro grupos de tratamiento establecidos, en las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE, sí se observan otras variables que sí lo están. Así, la edad, un origen de la infección de alto riesgo, los índices McCabe y de Pitt, así como la manifestación de infección con sepsis severa o shock séptico, son predictores independientes de mortalidad a los 14 y a los 30 días en la cohorte de tratamiento conjunto.

## DISCUSIÓN

## **1. INFLUENCIA DEL TIPO DE ANTIMICROBIANO (BL/IBL VS CARBAPENEMES) EN EL TRATAMIENTO DE BACTERIEMIAS POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BLEE**

Nuestros resultados refuerzan de manera importante la hipótesis de que los BL/IBL, si son activos in vitro, no son inferiores a los carbapenemes en el tratamiento de las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE. Cabe destacar que estos resultados no sólo son aplicables a bacteriemias por *E. coli* con origen urinario o biliar (Pérez 2012), sino que sugieren que los BL/IBL pueden ser alternativas útiles a los carbapenemes para el tratamiento de las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE con cualquier origen de la infección. Asimismo, pensamos que estos resultados son la mejor evidencia disponible hasta el momento para considerar a los BL/IBL como antibióticos alternativos a los carbapenemes en estas infecciones.

De hecho, los BL/IBL han demostrado ser tan eficaces como los carbapenemes para el tratamiento de diversas infecciones graves (independientemente de la etiología) en diversos ensayos clínicos aleatorizados en los que se han comparado, como se demuestra en un reciente meta-análisis de alta calidad publicado (Shiber 2015). Las razones para dudar de la eficacia de los BL/IBL en el tratamiento de infecciones graves causadas por enterobacterias productoras de BLEE aún cuando éstas son sensibles han sido mencionadas en publicaciones anteriores (Paterson 2005; Rodríguez-Baño 2012; Pérez 2012), y son las siguientes:

- a) El efecto inóculo, es decir, el hecho de que un antimicrobiano sea menos activo in vitro cuando se enfrenta a un alto inóculo de bacterias. López-Cerero *et al.* (López-Cerero 2010) analizaron el posible efecto inóculo de piperacilina/tazobactam y amoxicilina/ácido clavulánico frente a cepas de *E. coli* productoras y no productoras de BLEE. Las conclusiones fueron que piperacilina/tazobactam reduce significativamente su actividad frente a altos inóculos tanto de cepas BLEe como no BLEE (lo que podría sugerir que éste no estuviera asociado con la producción de  $\beta$ -lactamasas), mientras que amoxicilina/ácido clavulánico se ve escasamente afectada por este fenómeno. Estos resultados se vieron corroborados parcialmente en un estudio realizado en un modelo animal (Docobo-Pérez 2013), en el que además amoxicilina/ácido clavulánico se comportó de manera similar a imipenem.
- b) Los resultados de algunos ensayos en animales. En dos estudios con modelos experimentales de infección intraabdominal en ratas, imipenem fue más activo que piperacilina/tazobactam contra *K. pneumoniae* productora de TEM-26, mostrando además que la respuesta de piperacilina/tazobactam podría ser dependiente de la dosis (Rice 1994; Thauvin-Eliopoulos 1997). Sin embargo, en un estudio de endocarditis en conejos (Mentec 1992), piperacilina/tazobactam mostró buenos resultados frente a *K. pneumoniae* productora de TEM-3. En el modelo murino de sepsis anteriormente comentado (Docobo-Perez 2014) amoxicilina/ácido clavulánico tuvo una eficacia similar a imipenem.
- c) Algunos fracasos anecdóticos. Zimhony *et al.* (Zimhony 2006) informaron del fracaso de piperacilina / tazobactam en un paciente con endocarditis de válvula protésica causada por *K. pneumoniae* productora de CTX-M-2 y OXA-2 debido al desarrollo de la resistencia durante el tratamiento; no pudo caracterizarse el mecanismo de resistencia. Cabe comentar que no tenemos conocimiento de otros casos en los que se ha producido el desarrollo de la resistencia a BLBLI in vivo. La posibilidad de que los
-

aislados puedan aumentar la producción de BLEE *in vivo* existe; en cualquier caso también podría teóricamente ocurrir en cepas productoras de TEM-1.

- d) Obviamente, las enterobacterias productoras de BLEE productoras de pueden ser resistentes a BL/IBL como resultado de mecanismos de resistencia adicionales, tales como hiperproducción de TEM-1 o SHV-1, la producción de OXA-1 (frecuentemente *E. coli* productora de CTX-M-15 del grupo clonal ST 131 [Coque 2008]), o por pérdida porina (que también puede afectar a los carbapenemes). Pitout *et al.* informaron de que el sistema automatizado Vitek puede no detectar la resistencia a piperacilina / tazobactam, concretamente en el caso de *E. coli* productor de CTX-M-15 y OXA-1, y recomendó el uso de métodos alternativos de pruebas de sensibilidad (Pitout 2008).

Además, la CMI de los carbapenemes (excepto ertapenem) para la mayoría de las enterobacterias productoras de BLEE está varias veces por debajo de los puntos de corte, mientras que para los BL/IBL una importante proporción de enterobacterias productoras de BLEE sensibles muestran una CMI en el punto de corte o solo una dilución inferior (Paterson 2005; Rodríguez-Baño 2012, CMI). De hecho, un análisis específico de las series de pacientes tratados con piperacilina/tazobactam del análisis post-hoc realizado en España (Rodríguez-Baño 2012, CID) sugirió que piperacilina/tazobactam podía ser menos eficaz en los pacientes con bacteriemias graves de origen no urinario causadas por EC-BLEE con sensibilidad en el límite que en los pacientes con bacteriemias de origen urinario, o incluso de otros orígenes cuando la CMI era inferior (Retamar 2013).



Hasta la realización de este trabajo, el estudio que más información había aportado respecto a la utilidad de los BL/IBL en el tratamiento de las infecciones invasivas por enterobacteria productoras de BLEE fue el análisis pos-hoc de varias cohortes prospectivas realizado por investigadores de REIPI y coordinado por nuestro grupo (Rodríguez-Baño 2012). En ese estudio se incluyeron episodios de bacteriemia por EC-BLEE; se analizaron por separado el tratamiento empírico y el dirigido, se usaron criterios estrictos para incluir a los pacientes que habían recibido tratamiento con BL/IBL ó carbapenemes y se realizó un control de variables confusoras mediante análisis multivariantes con la inclusión de un *índice de propensión*. Pues bien, no pudieron encontrarse diferencias entre BL/IBL y carbapenemes ni en cuanto a la mortalidad a los 30 días ni en cuanto a la estancia hospitalaria en los supervivientes. Las principales limitaciones para la generalización de estos resultados son que solo se incluyeron cepas de E. coli, y que el 60% de los casos tenían un origen urinario o biliar, que en general pueden ser infecciones con menor mortalidad y en las que los BL/IBL alcanzan altas concentraciones. De hecho, un dato importante es que la dosis de piperacilina/tazobactam fue elevada (4.5 g cada 6 horas) en la mayoría de los pacientes tratados con este antibiótico.

En el reciente meta-análisis de estudios observacionales con bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE anteriormente comentado (Vardakas 2012), no se pudieron encontrar diferencias significativas en la mortalidad de los tratados con BL/IBL en comparación con los tratados con carbapenemes. No obstante, este estudio presentaba limitaciones importantes debidas a la heterogeneidad de los estudios incluidos; la mayoría de los estudios no fueron diseñados para estudiar tratamientos alternativos a los carbapenemes para bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE y, por tanto, no se disponían en todos los casos de todas las posibles variables confusoras. Además, en algunos estudios era imposible discriminar entre los pacientes tratados con monoterapia o con una combinación de antibióticos.

Sin embargo, un estudio que acaba de publicarse realizado en un solo centro de EE.UU. ha encontrado que el tratamiento con piperacilina/tazobactam se asoció con mayor mortalidad que el tratamiento con carbapenemes en bacteriemias por enterobacterias diversas productoras de BLEE (Tamma 2015). En este estudio no se realizó un adecuado control por la gravedad de la enfermedad crónica de base ni por la presencia de shock séptico en la presentación de la bacteriemia; además, la dosis de piperacilina/tazobactam fue significativamente más baja que en el estudio español (el 60% recibieron 3,375 g cada 6 horas). Finalmente, no se analiza el impacto del microorganismo, de hecho no se especifica el número de casos causado por *E. coli*, *Klebsiella* spp. ó *Proteus* spp.

Por todo lo anterior, era necesario realizar este trabajo, dado que aún existían cautelas acerca de la eficacia real de los BL/IBL en general, y de piperacilina/tazobactam en particular, para el tratamiento dichas infecciones excepto quizás cuando son causadas por *E. coli* y tienen un origen urinario.

Una cuestión importante es si piperacilina/tazobactam y amoxicilina/ácido clavulánico son igual de eficaces. Como se indicó anteriormente, amoxicilina/ácido clavulánico no sufre efecto inóculo (Rice 1994, López-Cerero 2010) y mostró mejor actividad que piperacilina/tazobactam en una sepsis experimental en ratones causada por EC- BLEE (Docobo 2013). En nuestro estudio observamos diferencias cercanas a las significación en el análisis crudo de algunas variables pronósticas estudiadas entre amoxicilina/ácido clavulánico y piperacilina/tazobactam, aunque es necesario un análisis específico en profundidad de la comparación entre ambos antibióticos, considerando variables confusoras. Igualmente, en el análisis de sensibilidad realizado para la cohorte empírica (en la cohorte definitiva no se pudo analizar el subgrupo de sólo amoxicilina/ácido clavulánico al no haber un número de casos suficiente que no curaran o mejoraran a 14 días), no hubo diferencias significativas en la curación y mejoría a los 14 días respecto al tratamiento con carbapenemes en el subgrupo con sólo amoxicilina/ácido clavulánico como BL/IBL, ni tampoco en el subgrupo con sólo piperacilina/tazobactam. Sin embargo, dado que esta comparación no

era uno de los objetivos de nuestro estudio, deberá ser en posteriores análisis de los casos recogidos en el Proyecto INCREMENT donde se profundice en el análisis de esta comparativa entre amoxicilina/ácido clavulánico y piperacilina/tazobactam.

La sensibilidad de las enterobacterias productoras de BLEE a los BL/IBL es heterogénea según la especie y la localización geográfica. Respecto a *E. coli*, que es el principal microorganismo implicado en las infecciones de adquisición comunitaria con origen urinario o intraabdominal, en general más del 70% de los productores de BLEE son sensibles a piperacilina/tazobactam (Chen 2011; Hawser 2011; Hoban 2010; Díaz 2010; Ruiz de Alegría 2011; Hawser 2013) y en algunas zonas, como España o China, más del 60% son sensibles a amoxicilina/ácido clavulánico (Rodríguez-Baño 2012, CID; Hawser 2013). Así, en segundo estudio multicéntrico llevado a cabo en España (Díaz 2010), el 69% de los aislados de *E. coli* productor de BLEE eran sensibles a amoxicilina/ácido clavulánico, aunque un elevado porcentaje resultó resistente a ampicilina/sulbactam. Sin embargo, este no es el caso en las zonas con alta frecuencia de *E. coli* productora de CTX-M-15, dado que ésta frecuentemente se asocia a la producción de OXA-1 (Livermore 2005), que es resistente a la acción de los inhibidores; Sin embargo, la sensibilidad a piperacilina/tazobactam o amoxicilina/ácido clavulánico cuando la enterobacteria productora de BLEE es *K. pneumoniae*, que es predominantemente un patógeno nosocomial, es menos frecuente (alrededor del 25% para piperacilina/tazobactam y <10% para amoxicilina/ácido clavulánico [Chen 2011; Hawser 2011; Hoban 2010; Díaz 2010; Ruiz de Alegría 2011; Hawser 2013; Rodríguez-Baño 2010]).

Como hemos apuntado antes, una cuestión de interés es la CMI de las cepas y la dosis de los BL/IBL. Los modelos estocásticos han demostrado un 99% de probabilidad de alcanzar el objetivo farmacocinético/farmacodinámico (tiempo por encima de la CMI mayor del 50%) para las enterobacterias productoras de BLEE con una dosis de 4500 mg/6 h de piperacilina/tazobactam cuando la CMI del aislado es menor o igual a 8 mg/L, en contraste con una probabilidad de

---

únicamente el 57% cuando la CMI es de 16 mg/L (McGowan 2008). Nuestros resultados también mostraron una tendencia de mayor mortalidad según aumentaba la CMI de piperacilina/tazobactam. Aunque la dosis utilizada rara vez se ha especificado en publicaciones anteriores, en muchos países la dosis habitual para piperacilina/tazobactam es 3375 mg cada 6 u 8 horas, mientras que la dosis más frecuente en nuestro estudio fue de 4500 mg cada 6 u 8 h. No existen estudios similares para amoxicilina/ácido clavulánico, aunque nuestros datos sugieren que 1200 mg/8 h es adecuada para la mayoría de los pacientes.

Aunque como se verá con mayor detenimiento posteriormente en el apartado de limitaciones, nuestro estudio es observacional y por tanto presenta las típicas limitaciones de este tipo de diseños (Bettioli 2014), tiene unas importantes fortalezas metodológicas que deberían ser consideradas:

En primer lugar, la hipótesis, objetivos, diseño y análisis estadístico fueron previamente registrados para evitar hallazgos post-hoc ocasionales o establecimiento de hipótesis tras los análisis, como se recomienda para los estudios observacionales (Loder 2010; Thomas 2012).

En segundo lugar, se utilizaron unos criterios muy estrictos para la asignación de tratamientos. Los cambios de tratamiento son muy frecuentes en la práctica habitual, por lo que es difícil asignar adecuadamente a los pacientes un régimen de antibióticos específico en los estudios observacionales; de hecho, la mayoría de los estudios observacionales carecen de criterios apropiados para la asignación, probablemente para llegar a una muestra mayor (Bettioli 2014). En nuestro caso, dado que disponíamos de un gran número de casos, pudimos utilizar criterios muy restrictivos para aumentar la validez interna de nuestros datos.

En tercer lugar, hemos utilizado la respuesta clínica, la mortalidad y la estancia hospitalaria como variables resultado. Los estudios previos existentes han

evaluado principalmente la mortalidad, que tiene la ventaja de ser una variable resultado marcadamente objetiva ("dura"), pero que puede subestimar las diferencias entre los antimicrobianos, dado que los pacientes en los que falle el tratamiento inicial pueden mejorar con otro antimicrobiano y finalmente sobrevivir; es por eso que en nuestro estudio hemos utilizado como variable resultado principal la respuesta clínica, al ser una medida de resultado más subjetiva ("suave") pero también, probablemente, más sensible. Debido a que no fue posible realizar un análisis de supervivencia mediante regresión de Cox, se analizó el impacto de la terapia con BL/IBL o carbapenemes en la mortalidad temprana (14 días) y tardía (30 días).

Por último, hemos utilizado métodos avanzados para el control de factores de confusión como el uso de los índices de propensión y análisis de sensibilidad (Bettiol 2014).

Otros puntos fuertes de nuestro estudio son la inclusión de casos de diversas zonas geográficas a nivel mundial y un alto número de casos incluidos de pacientes con infecciones causadas por enterobacterias distintas a la *E. coli* y con un origen de la infección distinto al urinario.

Un ensayo controlado aleatorizado sería el mejor estudio para evaluar que los BL/IBL no son inferiores a los carbapenemes. El estudio denominado MERINO, actualmente en fase de inclusión de casos en Australia, Singapur y Nueva Zelanda, comparará piperacilina / tazobactam y meropenem en el tratamiento de las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE ([www.anzctr.org.au/](http://www.anzctr.org.au/)). Sin embargo, los resultados de ese estudio tendrán que esperar por lo menos 3 años.

Nuestros resultados deberían ayudar a incorporar los BL/IBL como tratamiento dirigido para las infecciones por enterobacterias productoras de BLEE para evitar el sobreuso de carbapenemes. De esta forma, nuestros resultados sugieren

piperacilina/tazobactam o amoxicilina/ácido clavulánico son opciones adecuadas para el tratamiento definitivo una vez que se conozca su actividad tras el antibiograma, y así evitar un consumo excesivo de carbapenemes. En concreto, dado su espectro más reducido y la posibilidad de cambiar a vía oral, la administración de amoxicilina/ácido clavulánico podría ser particularmente atractiva en los países donde este antimicrobiano esté disponible.

En cuanto al uso como tratamiento empírico de los BL/IBL, una combinación de amoxicilina/ácido clavulánico y un aminoglucósido podría utilizarse en vez de los carbapenemes para el tratamiento de infecciones con origen comunitario y con riesgo de que estén causadas por enterobacterias productoras de BLEE en zonas donde estos antimicrobianos sean frecuentemente sensibles como ocurre en España (Rodríguez-Baño 2010), particularmente en el caso de infecciones del tracto urinario, hasta que estén disponibles los resultados del antibiograma.

Finalmente nuestros resultados animan a continuar con el desarrollo de nuevos IBL, como es el caso de avibactam, que se están investigando en combinación con cefalosporinas ó aztreonam para el tratamiento de enterobacterias multirresistentes, incluyendo productoras de BLEE y algunos tipos de carbapenemasas.

En conclusion, hasta que los resultados del referido ensayo controlado aleatorizado estén disponibles, estos datos expuestos en esta tesis son, a nuestro juicio, la mejor evidencia para apoyar el uso de los BL/IBL activos in vitro como alternativas a los carbapenemes para el tratamiento de las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE, independientemente del tipo de enterobacteria y del origen de la infección. Por tanto, nuestros resultados aquí expuestos podrían ser útiles para evitar un sobreuso de los carbapenemes.

## **2. OTRAS VARIABLES ASOCIADAS A LA CURA Y MEJORÍA Y MORTALIDAD EN BACTERIEMIAS POR BLEE**

Independientemente de que el tratamiento con un fármaco u otro presenten o no diferencias significativas en lo referente al pronóstico, existen otras variables que tras su ajuste en el modelo de regresión logística multivariante correspondiente, sí están significativamente asociadas con el mismo. Así en estudios previos en pacientes con bacteriemias en general, y causadas por enterobacterias productoras de BLEE en particular, han encontrado la edad, la puntuación de McCabe o el Índice de Pitt, un origen de la infección de alto riesgo, la sepsis severa o shock séptico a la presentación o un tratamiento empírico apropiado o no, y en menor medida, el tipo de enterobacteria y el tipo de adquisición, como variables asociadas a la mortalidad en los modelos multivariantes obtenidos (Retamar 2010; Rodríguez-Baño 2010).

Sin embargo, no se hemos encontrado estudios en los que se analizaran las posibles variables predictoras de la respuesta clínica (medida como curación y mejoría) en bacteriemias en general, y por enterobacterias productoras de BLEE en particular. Por ello, estos resultados son, a nuestros entender, los primeros que muestran las posibles variables asociadas a la curación y mejoría temprana.

### **Variables predictoras según la situación clínica del paciente**

En nuestro estudio hemos utilizados cuatro índices para medir la situación clínica basal del paciente. De ellos dos hacen referencia a la situación de las enfermedades crónicas base: el índice de Charlson (Charlson 1987) y la clasificación de McCabe (McCabe 1962); y otros dos a la situación clínica aguda: la escala de gravedad del SRIS, relacionada por tanto con la infección (Levy 2003, Dellinger 2008) y el índice de Pitt, relacionado con la gravedad aguda en el momento de aparición de la infección, que ha sido validado en algunos estudios de bacteriemia (Paterson 2004, Rodríguez-Baño 2003). En nuestro estudio, los

cuatro índices se correlacionaron en el análisis univariante con una menor curación y mejoría a 14 días, y con una mayor mortalidad por bacteriemia tanto a los 14 como a los 30 días con una fuerte asociación en todos los casos. Dado que los índices de Charlson y McCabe miden conceptualmente lo mismo, solo usamos uno de ellos para los modelos multivariantes; en concreto, usamos el índice de McCabe dado que era el que mostraba mayor asociación. Es decir, como medida de la comorbilidad del paciente se ajustaba mejor a nuestros modelos obtenidos el índice McCabe que el índice de Charlson.

### **El origen de la infección de alto riesgo como variable predictora**

En nuestras cohortes los orígenes de la bacteriemia que se asociaron con un peor pronóstico fueron los que hemos denominado de alto riesgo: aquellos que eran diferentes a un origen urinario o biliar, como un origen respiratorio, abdominal o desconocido. Los focos abdominal y respiratorio se relacionan en múltiples estudios con mayor mortalidad en bacteriemias en general (Ortega 2007, Vallés 2003, Bearman 2005, Retamar 2010, Frakking 2013), y en enterobacterias productoras de BLEE en particular (Ortega 2009). En el estudio de Vallés *et al.*, el origen desconocido también se asoció a un peor pronóstico. En cambio, tanto el origen urinario (Tumbarello 2007), a pesar de ser el más frecuente, como el de catéter y el biliar fueron los orígenes asociados a una menor mortalidad. Se cree que el buen pronóstico de las bacteriemias de origen urinario se deba a la facilidad en su detección, a la alta concentración que algunos antimicrobianos alcanzan en la orina y al drenaje natural (salvo obstrucción), que la orina realiza. El manejo de la infección urinaria y biliar lleva implícita la desobstrucción de la vía afecta si la vía estaba obstruida, y la del catéter, la retirada del mismo salvo en muy determinadas circunstancias. Este hecho contribuye en gran medida a resolver la infección (Torradabella 1999, Bergogne 1999), pudiendo justificar, en parte, el mejor pronóstico de la bacteriemia asociada a estos orígenes.



### **El tipo de microorganismo como factor predictivo**

En nuestro estudio, el tipo de enterobacteria productora de BLEE sólo se ha observado significativamente asociada con la mortalidad a 30 días tanto para la cohorte de tratamiento definitivo como en la cohorte conjunta. En estos resultados si la enterobacteria era diferente de *E. coli*, la OR de mortalidad a 30 días era de 1.89 (IC 95% 1.01-3.45;  $p=0.045$ ) respecto a una bacteriemia por un *E.coli*. En el resto de los modelos obtenidos, tanto para la curación y mejoría como para la mortalidad, aunque esta asociación (mayor riesgo de mortalidad o de no curación en enterobacterias no *E. coli*) era significativa en el análisis univariante, dejaba de serlo en el análisis multivariante.

En general las bacteriemias por *E. coli* en general, productoras o no de BLEE, se asocian frecuentemente con infecciones cuyo origen tiene bajo efecto inóculo (como es el caso del origen urinario) o en las que se puede conseguir una reducción del inóculo a través de un drenaje (como son las infecciones del tracto biliar). Además, no es infrecuente que las cepas de *E. coli* sean, en general, más sensibles a antibióticos que otras enterobacterias. A este respecto, la práctica totalidad de los estudios publicados, tanto para bacteriemias en general (Ibrahim 2000, McArthur 2003, Diekema 2002, Harbarth 2003, Kollef 1999, Wisplinghoff 2004) coinciden en observar una menor mortalidad si el tipo de enterobacteria es *E. coli*, si bien esta asociación no siempre es significativa.

### **El tipo de adquisición como factor de riesgo**

Aunque en el análisis crudo las bacteriemias nosocomiales presentaron un peor pronóstico de curación y mejoría, así como de mortalidad, que en las relacionadas con los cuidados sanitarios o en las bacteriemias comunitarias, llegando a existir diferencias significativas en los análisis univariantes realizados, tras los análisis multivariantes no encontramos diferencias significativas de mortalidad o curación y mejoría en función de la adquisición. Esta asociación ha sido descrita en otros estudios de bacteriemias en general (Friedman 2002, Vallés 2008, Shorr 2007).

En las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE apenas hay estudios que relacionen esta variable como factor de riesgo de mortalidad; Peralta *et al.* encontraron una asociación significativa entre una adquisición nosocomial y un mayor riesgo de mortalidad (Peralta 2012).

### **El tratamiento empírico inadecuado como factor de riesgo**

Para estudiar la relación entre la adecuación del tratamiento empírico y la mortalidad, McGregor *et al.* en su revisión metodológica insisten en la necesidad de que los estudios definan adecuadamente la variable tratamiento empírico inadecuado y la diferencien del definitivo. Para nuestro análisis de la cohorte de tratamiento definitivo se ha analizado la variable tratamiento empírico administrado con tres categorías: carbapenemes, otro antimicrobiano activo, y la ausencia de tratamiento empírico o la administración de antibióticos no activos. Para la cohorte conjunta se ha analizado el tratamiento empírico administrado como adecuado o no, siendo considerado el tratamiento empírico como adecuado como aquel que incluía un fármaco activo in vitro (la cepa era sensible o presentaba sensibilidad intermedia in vitro durante las primeras 24 horas, a las dosis habitualmente recomendadas).

En el estudio univariante de esta variable con la mortalidad a 14 y 30 días, o con la curación y mejoría, no se observó una asociación significativa. Sin embargo en los modelos predictivos obtenidos tras la regresión logística multivariante para la mortalidad a 14 y 30 días en la cohorte de tratamiento definitivo se ha incluido esta variable, aún sin ser estrictamente significativa su asociación con la mortalidad (OR=1.99 ;IC al 95%: 0.86-4.94; p=0.12 y OR=2.06; IC al 95%:0.96-4.63; p= 0.07 respectivamente) debido a su importancia como potencial variable confusora.

Esta asociación ha sido descrita previamente, sobre todo en cohortes seleccionadas de pacientes con bacteriemia nosocomial o ingresados en UCI, encontrándose en algunos estudios que la mortalidad es de hasta siete veces más en los pacientes con tratamiento empírico inadecuado (Ibrahim 2000, Garnacho-Montero 2003). Harbarth *et al.* en un estudio multicéntrico de pacientes con sepsis grave concluyeron que el tratamiento antimicrobiano empírico estaba relacionado con una mayor mortalidad pero que esta asociación pudiera no mantenerse en el caso de pacientes no graves. En otros estudios se ha descrito que el tratamiento antimicrobiano inadecuado se relacionaba con una mayor mortalidad solo en ciertos grupos de pacientes en función de la enfermedad de base. Así Lin *et al.* describieron que esta asociación solo se mantenía en los pacientes neutropénicos (Lin 2008). También Peralta *et al.* (Peralta 2007) analizó la relación significativa en las bacteriemias en general entre mortalidad y tratamiento empírico inadecuado. En un estudio realizado en hospitales andaluces se encontró que el tratamiento empírico inadecuado era un predictor independiente de mortalidad en el día 30 utilizando diversos métodos de control de la confusión (Retamar 2010).

La relación entre un tratamiento empírico inadecuado y una mayor mortalidad también ha sido continuamente analizada en las bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE con conclusiones dispares: Peralta *et al.* (Peralta 2012) en su estudio de 387 bacteriemias por EC-BLEE obtuvo que un tratamiento empírico adecuado estaba asociado con la mortalidad únicamente en el grupo con sepsis severa o shock (OR: 0.42, IC al 95%: 0.19-0.92,  $p=0.03$ ), pero no estaba asociada en el grupo de los pacientes que no presentaban sepsis severa o shock séptico. Tumbarello *et al.* (Tumbarello 2007) también analizaron 186 bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE concluyendo que tras el análisis multivariante sólo el tratamiento empírico inadecuado y un origen de la infección desconocido estaban significativamente asociadas con la mortalidad a 21 días. También se observó esta relación entre tratamiento inadecuado y mortalidad cuando el origen de la infección era no urinario (Peña 2008). El tratamiento inadecuado también fue factor de riesgo independiente de mortalidad en otros estudios publicados de bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE (Ortega 2009, Hyle 2005). Por otro lado, Rodríguez-Baño *et al.* (Rodríguez-Baño 2010 JCM), en su estudio donde se analizaban los factores de riesgo de mortalidad a 14 y 30 días en las bacteriemias nosocomiales causadas por *E. coli* productor de BLEE, concluyó que el tratamiento inadecuado no se asociaba con una mayor mortalidad, pero sí en las comunitarias, siendo más importante esta variable que el hecho de que la cepa fuera o no productora de BLEE (Rodríguez-Baño 2010 CID). También en un reciente estudio publicado (Frakking 2013) de 232 bacteriemias por BLEE en diversos hospitales holandeses se concluía que después de ajustar con las variables confusoras y de estratificar en pacientes con ITU y no-ITU, no existía asociación estadísticamente significativa entre la mortalidad a 30 días y el tratamiento inadecuado, aunque, como en nuestro estudio, sí se observaba una tendencia clara a una mayor mortalidad en los casos con tratamiento empírico inadecuado. Esta asociación entre el tratamiento empírico inadecuado y una mayor mortalidad tampoco fue significativamente estadística en otros estudios publicados en bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE (Kang 2012, Chaubey 2010).

### 3. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Como se ha indicado anteriormente, nuestro estudio es observacional y por tanto presenta las típicas limitaciones de este tipo de diseños:

En los estudios observacionales siempre se debe considerar la potencial limitación de no haber incluido en el análisis variables confusoras importantes. Es posible que el factor de estudio no se controle por este tipo de variables, sobreestimando o infraestimando su impacto sobre la variable resultante. En nuestro estudio hemos intentado evitar este problema mediante la revisión previa de todas las posibles variables que participan en el pronóstico de la bacteriemia, pero asumimos que es imposible controlar todas las posibles variables de confusión.

Asimismo, en nuestro estudio, varios de los casos incluidos se remontan hasta 2004, como se ha indicado en los criterios de inclusión. Por tanto, los puntos de corte de varios de los antimicrobianos han cambiado, y es posible que haya casos cuyas cepas se consideraran como sensibles a esos antimicrobianos cuando se registró el caso y actualmente se deberían considerar como resistentes. En nuestro estudio, este hecho lo hemos corregido si se facilitaba la CMI obtenida para ese antimicrobiano, aunque algunas cepas habían sido estudiadas por el método de Kirby-Bauer siendo en estos casos, por tanto, imposible de solventar.

Por otro lado, y como ya se indica en los Resultados por ser prácticamente el 100% de los casos tratados con BL/IBL, nuestro análisis se extiende únicamente a amoxicilina/ácido clavulánico y piperacilina/tazobactam, pero no a otro BL/IBL como ampicilina/sulbactam, ticacilina/ácido clavulánico ó cefoperazona/sulbactam.

Finalmente, cabe la posibilidad de que el tamaño muestral haya sido insuficiente para encontrar diferencias. De hecho, para alguna de las cohortes, el tamaño muestral alcanzado no ha sido exactamente el que habíamos calculado para obtener un error  $\beta < 20\%$ . Sin embargo, este es con mucho el mayor estudio publicado.

## CONCLUSIONES





1. En pacientes con bacteriemias por enterobacterias productoras de BLEE, no hemos podido encontrar que los BL/IBL con actividad in vitro frente a la cepa causante de infección sean inferiores a los carbapenemes en la frecuencia de curación y mejoría a los 14 días, mortalidad a los 14 ó 30 días ó estancia hospitalaria.
2. Asimismo, no hemos podido encontrar que los BL/IBL se asocien de forma independiente con peores tasas de curación y mejoría, mayor mortalidad a los 14 y 30 días o mayor estancia hospitalaria en comparación con los carbapenemes en el tratamiento dirigido de la bacteriemia por enterobacterias productoras de BLEE.
3. Estas dos conclusiones anteriores son independientes del tipo de enterobacteria, del origen de la infección, de la gravedad de presentación, de que el tratamiento se haya realizado con piperacilina/tazobactam ó amoxicilina/ácido clavulánico y del área geográfica.
4. La consistencia de los resultados (similares en las cohortes de tratamiento empírico, dirigido y total, para las diferentes variables resultado, y en los diferentes subgrupos analizados) y las fortalezas metodológicas del estudio refuerzan de manera importante la validez de los resultados.
5. No encontramos una tendencia clara a obtener peores resultados en función de la CMI de las cepas a amoxicilina/ácido clavulánico y piperacilina/tazobactam, pero estos resultados están limitados por no estar controlados por otras variables y por no estar disponibles en todos los casos.

6. La edad, la clasificación de McCabe, el Índice de Pitt, un origen de la infección de alto riesgo, sepsis grave o shock séptico a la presentación o un tratamiento empírico apropiado o no, y, en menor medida, la especie de enterobacteria y el tipo de adquisición, han sido variables predictoras de mortalidad y curación y mejoría en nuestro estudio.

# **PRODUCCIÓN CIENTÍFICA**



## 1 COMUNICACIONES A CONGRESOS

- **Belén Gutiérrez**, Jesús Sojo, Alvaro Pascual, Jesús Rodríguez Baño. Presentación Oral: *INCREMENT project. International Consortium*. VIII Jornadas Científicas de la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa. Madrid, Noviembre de 2013
- **Belén Gutiérrez**, Salvador Perez-Galera, Elena Salamanca, Robert A. Bonomo, Yehuda Carmeli, David L. Paterson, Alvaro Pascual, Jesús Rodríguez-Baño and REIPI/ESGBIS/INCREMENT investigators: *Design and analysis feasibility of an international cohort study of bacteraemia due to ESBL and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: the INCREMENT project*. Comunicación aceptada como presentación oral en el European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID 2014) que se celebró en Barcelona (España) entre los días 10 y 13 de mayo de 2014.
- **B. Gutiérrez-Gutiérrez**, E. Salamanca, S. Pérez-Galera, R. A. Bonomo, Y. Carmeli, D. Paterson, A. Pascual, J. Rodríguez-Baño, REIPI/ESGBIS/INCREMENT Investigators. *Assessment of  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactam Inhibitor (BL/BLI) combinations for the treatment of Bacteremia due to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae: The INCREMENT project (K.1041)*. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC 2014) que se celebró en Washington D.C. (EE.UU.) entre los días 5 al 9 de septiembre de 2014.
- **Belén Gutiérrez**, Alvaro Pascual, Jesús Rodríguez Baño. Presentación Oral: *Tratamiento de bacteriemias por Enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en el proyecto INCREMENT: Carbapenemes VS  $\beta$ -lactámicos inhibidores de  $\beta$ -lactamasas*. IX Jornadas Científicas de la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI). Hospital Universitario 12 de Octubre (Madrid), 18-19 de noviembre de 2014.

- **B. Gutiérrez-Gutiérrez**, M. de Cueto, E. Salamanca, S. Pérez-Galera, R. A. Bonomo, Y. Carmeli, D. Paterson, A. Pascual, J. Rodríguez-Baño, REIPI/ESGBIS/INCREMENT Investigators. *Empirical therapy with  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactam inhibitor (BLBLI) combinations vs carbapenems for the treatment of bacteraemia due to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae: The INCREMENT project.* Comunicación aceptada como presentación oral en el European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID 2015) que se celebrará en Copenhague (Dinamarca) entre los días 25 y 28 de abril de 2015.

**B. Gutiérrez-Gutiérrez**, M. de Cueto, E. Salamanca, R. A. Bonomo, Y. Carmeli, D. Paterson, A. Pascual, J. Rodríguez-Baño, REIPI/ESGBIS/INCREMENT Investigators. *Targeted therapy with  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactam Inhibitor (BLBLI) combinations vs carbapenems for the treatment of bacteraemia due to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae: The INCREMENT project.* Comunicación aceptada como poster en el European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID 2015) que se celebrará en Copenhague (Dinamarca) entre los días 25 y 28 de abril de 2015.

## 2 PUBLICACIONES

**Belén Gutiérrez-Gutiérrez**, Salvador Pérez-Galera, Elena Salamanca, Marina de Cueto, Esther Calbo, Benito Almirante, Pierluigi Viale, Antonio Oliver, Vicente Pintado, Oriol Gasch, Luis Martínez-Martínez, Johan Pitout, Murat Akova, Carmen Peña, José Molina, Alicia Hernández, Mario Venditti, Nuria Prim, Julia Origüen, German Bou, Evelina Tacconelli, Mario Tumbarello, Axel Hamprecht, Helen Giamarellou, Manel Almela, Federico Pérez, Mitchell J. Schwaber, Joaquín Bermejo, Warren Lowman, Po-Ren Hsueh, Marta Mora-Rillo, Clara Natera, Maria Souli, Robert A. Bonomo, Yehuda Carmeli, David L. Paterson, Alvaro Pascual, Jesús Rodríguez-Baño, and investigators from the REIPI/ESGBIS/INCREMENT Group\*.  *$\beta$ -Lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitors combinations for the treatment of bloodstream infections due to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae: a multinational, pre-registered cohort study*. Remitido para publicación.

# BIBLIOGRAFÍA





1. Agodi A, Voulgari E, Barchitta M, *et al.* Containment of an outbreak of KPC-3-producing *Klebsiella pneumoniae* in Italy. J Clin Microbiol. 2011; 49: 3986-3989.
2. Aibinu I, Odugbemi T, Koenig W, Ghebremedhin B. Sequence Type ST131 and ST10 Complex (ST617) predominant among CTX-M-15-producing *Escherichia coli* isolates from Nigeria. Clin Microbiol Infect. 2012; 18: E49-51.
3. Akaike H: A new look at the statistical model identification. IEEE Transactions on Automatic Control 1974; 19: 716-723.
4. Alpuche C. Infecciones nosocomiales por bacterias resistentes a cefalosporinas de espectro extendido: asociación de dos peligrosos enemigos. Enferm Infecc Microbiol Clin 2002; 22: 192-199.
5. Alvarez R, Viñas-Castillo L, Lepe-Jiménez JA, García-Cabrera E, Cisneros-Herreros JM. Time to positivity of blood culture association with clinical presentation, prognosis and ESBL-production in *Escherichia coli* bacteremia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012; 31: 2191-2195.
6. Álvarez-Lerma F, Gasulla GM, Abad P, *et al.* Efectividad del aislamiento de contacto en el control de bacterias multirresistentes en un servicio de medicina intensiva. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2002; 20: 57- 63.
7. Ambler RP. The structure of beta-lactamases. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 1980; 289: 321-31.
8. Arlet G, Rouveau M, Casin I, Bouvet PJ, Lagrange PH, Philippon A. Molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* strains that produce SHV-4 beta-lactamase and which were isolated in 14 french hospitals. J Clin Microbiol. 1994; 32: 2553-2558.

9. Asensio A, Oliver A, Gonzalez-Diego P, *et al.* Outbreak of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* strain in an intensive care unit: Antibiotic use as risk factor for colonization and infection. Clin Infect Dis. 2000; 30: 55-60.
  
10. Australian New Zealand Clinical Trials Registry. Trial from ANZCTR. Disponible en:  
<https://www.anzctr.org.au/Trial/Registration/TrialReview.aspx?id=363706>
  
11. Babini GS, Livermore DM. Are SHV beta-lactamases universal in *Klebsiella pneumoniae*? Antimicrob Agents Chemother. 2000; 44: 2230.
  
12. Baquero F, Reguera JA, Ojeda M, *et al.* *Escherichia coli* con resistencia a cefalosporina de tercera generación codificada por beta-lactamasas de tipo plasmídico: primer brote en España. Rev Esp. Microbiol Clin. 1988; 581-582.
  
13. Bassetti M, Righi E, Fasce R *et al.* Efficacy of ertapenem in the treatment of early ventilator-associated pneumonia caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing organisms in an intensive care unit. J Antimicrob Chemother. 2007;60:433-435.
  
14. Bauernfeind A, Grimm H, Schweighart S. A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of *Escherichia coli*. Infection. 1990;18: 294-298.
  
15. Bearman GM, Wenzel RP. Bacteremias: a leading cause of death. Arch Med Res. 2005; 36: 646-659.
  
16. Ben-Ami R, Schwaber MJ, Navon-Venezia S, *et al.* Influx of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae into the hospital. Clin Infect Dis. 2006; 42: 925-934.

17. Ben-Hamouda T, Foulon T, Ben-Mahrez K. Involvement of SHV- 12 and SHV-2a encoding plasmids in outbreaks of extended- spectrum beta-lactamases-producing *Klebsiella pneumoniae* in a Tunisian neonatal ward. *Microb. Drug Resist.* 2004; 10: 132-138.
18. Bennett PM. Genome plasticity: insertion sequence elements, transposons and integrons, and DNA rearrangement. *Methods Mol Biol.* 2004; 266: 71-113.
19. Bergogne-Bérézin E. Current guidelines for the treatment and prevention of nosocomial infections. *Drugs.* 1999; 58: 51-67.
20. Bertrand X, Hocquet D, Boisson K, *et al.* Molecular epidemiology of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamase in a French university-affiliated hospital. *Int J Antimicrob Agents.* 2003; 22: 128-133.
21. Bettiol E, Rottier WC, Del Toro MD, *et al*; COMBACTE consortium. Improved treatment of multidrug-resistant bacterial infections: utility of clinical studies. *Future Microbiol.* 2014; 9:757-971
22. Bin C, Hui W, Renyuan Z, *et al.* Outcome of cephalosporin treatment of bacteremia due to CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2006; 56: 351-357.
23. Blanc V, Mesa R, Saco M, *et al.* ESBL- and plasmidic class C beta-lactamase-producing *E. coli* strains isolated from poultry, pig and rabbit farms. *Vet Microbiol.* 2006; 118: 299-304.
24. Blot S, Vandewoude K, De Bacquer D and Colardyn F. Nosocomial Bacteremia Caused by Antibiotic-Resistant Gram-Negative Bacteria in Critically Ill Patients: Clinical Outcome and Length of Hospitalization. *Clin Inf Dis.* 2002; 34:1600–1606.

25. Blot, Vandewoude and Colardyn. Evaluation of Outcome in Critically Ill Patients With Nosocomial *Enterobacter* Bacteremia: Results of a Matched Cohort Study. *Chest* 2003; 123: 1208-1213.
26. Bonnet R, Dutour C, Sampaio JL, *et al.* Novel cefotaximase (CTX-M-16) with increased catalytic efficiency due to substitution Asp 240- ->Gly. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2001; 45: 2269-2275.
27. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48: 1-14.
28. Borer A, Gilad J, Menashe G, *et al.* Extended- spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae strains in community-acquired bacteremia in southern Israel. *Med Sci Monit*. 2002; 8: CR44-47.
29. Bou G, Cartelle M, Tomás M, *et al.* Identification and broad dissemination of the CTX-M-14 beta-lactamase in different *Escherichia coli* strains in the northwest area of Spain. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40: 4030- 4036.
30. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microb Rev*. 2001; 14: 933-951.
31. Briñas L, Moreno MA, Teshager T, *et al.* Monitoring and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* strains from healthy and sick animals in Spain in 2003. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49: 1262-1264.
32. Briñas L, Moreno MA, Zarazaga M, *et al.* Detection of CMY-2, CTX-M-14, and SHV-12 beta-lactamases in *Escherichia coli* fecal-sample isolates from healthy chickens. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003; 47: 2056-2058.

- 
33. Brun-Buisson C, Legrand P, Philippon A, *et al.* Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet*. 1987; 2(8554):302-306..
34. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009; 54: 969-976.
35. Calbo E, Romani V, Xercavins M, *et al.* Risk factors for community-onset urinary tract infections due to *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother*. 2006; 57: 780-783.
36. Canton R, Coque TM. The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol*. 2006; 9: 466-475.
37. Canton R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, *et al.* Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2008; 14 Suppl 1: 144-153.
38. Cantón R, Oliver A, Coque TM, *et al.* Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacter* isolates in a Spanish hospital during a 12 year period. *J Clin Microbiol*. 2002; 40: 1237-1243.
39. Carattoli A. Resistance plasmid families in Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009; 53: 2227-2238.
40. Chanawong A, M'Zali FH, Heritage J, *et al.* SHV-12, SHV-5, SHV-2a and VEB-1 extended-spectrum beta-lactamases in Gram-negative bacteria isolated in a university hospital in Thailand. *J Antimicrob Chemother*. 2001; 48: 839-852.
41. Charlson ME, Pompei P, Alex KNL, Mackenzie CR. A new method of classifying prognostic co-morbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chron Dis*. 1987; 40: 373-383.
-

42. Chaubey VP, Pitout JD, Dalton B, Ross T, *et al.* Clinical outcome of empiric antimicrobial therapy of bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. BMC Res Notes. 2010; 3: 116.
43. Chaves J, Ladona MG, Segura C, *et al.* SHV-1 beta-lactamase is mainly a chromosomally encoded species-specific enzyme in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2001; 45: 2856-2861.
44. Chen YH, Hsueh PR, Badal RE, *et al.* 2009 Asia-Pacific Smart Group. Antimicrobial susceptibility profiles of aerobic and facultative gramnegative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections in the Asia-Pacific region according to currently established susceptibility interpretive criteria. J Infect. 2011; 62: 280-291.
45. Chong Y, Ito Y, Kamimura T. Genetic evolution and clinical impact in extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Infect Genet Evol. 2011; 11: 1499-1504.
46. Chow JW, Fine MJ, Shlaes DM, Quinn JP, Hooper DC, Johnson MP, *et al.* Enterobacter bacteremia: clinical features and emergence of antibiotic resistance during therapy. Ann Intern Med. 1991; 115: 585-90.
47. Cisneros-Herreros JM, Cobo-Reinoso J, Pujol-Rojo M, *et al.* Guía para el diagnóstico y tratamiento del paciente con bacteriemia. Guías de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Enferm Infecc Microbiol Clin 2007; 25: 111-130.
48. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI M100-S22. CLSI, 2012.

49. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 21st informational supplement. CLSI document M100-S21. Wayne, PA: CLSI, 2011.
50. Cobo J, Morosini MI, Pintado V *et al.* Use of tigecycline for the treatment of prolonged bacteremia due to a multiresistant VIM-1 and SHV-12  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* epidemic clone. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008; 60: 319–322.
51. Cohen S.J., Dierikx C., Al Naiemi N. *et al.* Rapid detection of TEM, SHV and CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Enterobacteriaceae using ligation-mediated amplification with microarray analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2010, 65: 1377-1381.
52. Collins VL, Marchaim D, Pogue JM, *et al.* Efficacy of ertapenem for treatment of bloodstream infections caused by extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012; 56: 2173- 2177.
53. Colodner R, Rock W, Chazan B, *et al.* Risk factors for the development of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing bacteria in nonhospitalized patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004; 23: 163-167.
54. Conejo MC, Mata C, Navarro F, *et al.* Detection and reporting  $\beta$ -lactam resistance phenotypes in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: a multicenter proficiency study in Spain. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008; 62: 317-325.
55. Coque TM, Novais A, Carattoli A, *et al.* Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing extended-spectrum  $\beta$ -lactamase CTX-M-15. *Emerg Infect Dis* 2008; 14: 195–200.



56. Curcio D. Treatment of recurrent urosepsis with tigecycline: a pharmacological perspective. *J Clin Microbiol*. 2008; 46: 1892–1893.
57. Datta N, Kontomichalou P. Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature*. 1965; 208: 239-241.
58. de Cueto M, López L, Hernández JR, *et al*. In vitro activity of fosfomycin against extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: comparison of susceptibility testing procedures. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50: 368-370.
59. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, *et al*. Surviving sepsis campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32; 858-73.
60. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, *et al*. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Crit Care Med*. 2008; 36: 296-327.
61. Díaz M, Hernández R, Martínez-Martínez L, *et al*. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Spanish hospitals: 2<sup>nd</sup> multicenter study (GEIH-BLEE project, 2006). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009; 27: 503-510.
62. Díaz MA, Hernández-Bello JR, Rodríguez-Baño J, *et al*. Diversity of *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain: second nationwide study. *J Clin Microbiol*. 2010; 48: 2840-2845.
63. Diekema DJ, Pfaller MA, Jones RN. Age-related trends in pathogen frequency and antimicrobial susceptibility of bloodstream isolates in North America: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–2000. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 20: 412–18.

64. Diestra K, Coque TM, Miró E, *et al.* Caracterización y epidemiología molecular de betalactamasas de espectro extendido en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en 11 hospitales españoles (2004). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008; 26: 404-410.
65. Diwan V, Chandran SP, Tamhankar AJ, *et al.* Identification of extended-spectrum beta-lactamase and quinolone resistance genes in *Escherichia coli* isolated from hospital wastewater from central India. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67: 857-859.
66. Docobo-Pérez F, López-Cerero L, López-Rojas R, Egea P, Domínguez-Herrera J, Rodríguez-Baño J, Pascual A, Pachón J. Inoculum effect on the efficacies of amoxicillin-clavulanate, piperacillin-tazobactam, and imipenem against extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing and non-ESBL-producing *Escherichia coli* in an experimental murine sepsis model. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57: 2109-2113.
67. Doi Y, Paterson DL, Egea P, Pascual A, *et al.* Extended-spectrum and CMY-type  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in clinical samples and retail meat from Pittsburgh, US, and Seville, Spain. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 33-38.
68. Doménech-Sánchez A, Pascual A, Suárez AI, *et al.* Activity of nine antimicrobial agents against clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and deficient or not in porins. *J. Antimicrob. Chemother.* 2000; 46: 858-859.
69. Drusano GL. Infection in the intensive care unit: beta-lactamase-mediated resistance among Enterobacteriaceae and optimal antimicrobial dosing. *Clin Infect Dis.* 1998; 27 Suppl 1: S111-S116.

70. Du B, Long Y, Liu H, *et al.* Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: Risk factors and clinical outcome. *Intensive Care Med.* 2002; 28: 1718-1723.
71. Du Bois SK, Marriott MS, Amyes SG. TEM- and SHV-derived extended-spectrum beta-lactamases: relationship between selection, structure and function. *J Antimicrob Chemother.* 1995; 35: 7-22.
72. European Antimicrobial Surveillance System (EARSS). Disponible en: <http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/Pages/index.aspx>
73. Egea P, López-Cerero L, Torres E, *et al.* Increased raw poultry meat colonization by extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in the south of Spain. *Int J Food Microbiol.* 2012;159: 69-73.
74. Endimiani A, Luzzaro F, Perilli M *et al.* Bacteremia due to *Klebsiella pneumoniae* isolates producing the TEM-52 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase: treatment outcome of patients receiving imipenem or ciprofloxacin. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 38: 243-251.
75. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Disponible en: <http://www.eucast.org>.
76. Falagas ME, Kastoris AC, Kapaskelis AM, *et al.* Fosfomycin for the treatment of multidrug-resistant, including extended-spectrum beta-lactamase producing, Enterobacteriaceae infections: a systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2010; 10: 43-50.
77. Fernández. Análisis de supervivencia. *Cad Aten Primaria* 1995; 2: 130-135.

78. Fernández-Rodríguez A, Reguera JA, Pérez-Díaz JC, *et al.* Primera epidemia española de resistencia plasmídica a cefalosporinas de tercera generación: implicación de SHV-2. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 1992; 10: 456-461.
79. Fowler VG, Olsen MK, Corey GR, *et al.* Clinical identifiers of complicated *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Arch Intern Med.* 2003; 163: 2066-2072.
80. Fowler VG, Sakoulas G, McIntyre LM, Meka VG, Arbeit RD, Cabell CH, *et al.* Persistent bacteremia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection is associated with agr dysfunction and low-level in vitro resistance to thrombin-induced platelet microbicidal protein. *J Infect Dis* 2004; 190: 1140-1149.
81. Frakking FN, Rottier WC, Dorigo-Zetsma JW, *et al.* Appropriateness of empirical treatment and outcome in bacteremia caused by extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013; 57: 3092-3099.
82. Frei CR, Wiederhold N, Burgess DS. Antimicrobial breakpoints for Gram-negative aerobic bacteria based on pharmacokinetic-pharmacodynamic models with Monte Carlo simulations. *J Antimicrob Chemother.* 2008; 61: 621-628.
83. Friedman ND, Kaye KS, Stout JE, *et al.* Health care associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Ann Intern Med.* 2002; 137: 791-797.
84. Frost LS, Leplae R, Summers AO, Toussaint A. Mobile genetic elements: the agents of open source evolution. *Nat Rev Microbiol.* 2005; 3:722-732.

85. García-Hernández AM, García-Vázquez E, Hernández-Torres A, *et al.* Bacteraemia due to *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBL): Clinical relevance and today's insights. *Rev Esp Quimioter.* 2011; 24: 57-66.
86. Garnacho-Montero J, García-Garmendia JL, Barrero-Almodovar A, *et al.* Impact of adequate empirical antibiotic therapy on the outcome of patients admitted to the intensive care unit with sepsis. *Crit Care Med.* 2003; 31: 2807-2808.
87. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, *et al.* CDC definitions for nosocomial infections. *Am J Infect Control.* 1988; 16: 128-40.
88. Giamarellou H. Treatment options for multidrug-resistant bacteria. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2006; 4: 601-618.
89. Gniadkowski M. Evolution and epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms. *Clin Microbiol Infect.* 2001; 7: 597-608.
90. Harbarth S, Garbino J, Pugin J, *et al.* Inappropriate Initial Antimicrobial Therapy and Its Effect on Survival in a Clinical Trial of Immunomodulating Therapy for Severe Sepsis. *Am J Med.* 2003; 115: 529-535.
91. Harris AD, Kotetishvili M, Shurland S, *et al.* How important is patient-to-patient transmission in extended-spectrum beta-lactamase *Escherichia coli* acquisition. *Am J Infect Control.* 2007; 35: 97-101.
92. Hawkey PM, Jones AM. The changing epidemiology of resistance. *J Antimicrob Chemother.* 2009; 64 Suppl 1: i3-10.

- 93.Hawser S, Hoban D, Bouchillon S, *et al.* Antimicrobial susceptibility of intra-abdominal gram-negative bacilli from Europe: SMART Europe 2008. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; 30: 173–9.
- 94.Hawser SP, Badal RE, Bouchillon SK, Hoban DJ, Biedenbach DJ, Cantón R, Paterson DL. Monitoring the global in vitro activity of ertapenem against *Escherichia coli* from intra-abdominal infections: SMART 2002–2010. *Int J Antimicrob Agents* 2013; 41: 224-228.
- 95.Hawser SP, Bouchillon SK, Hoban DJ, *et al.* Low frequency of ertapenem-resistant intra-abdominal isolates of *Escherichia coli* from Latin America: susceptibility, ESBL-occurrence, and molecular characterisation (SMART 2008-2009). *J Chemother.* 2012;24: 6-11.
- 96.Heritage J, M'Zali FH, Gascoyne-Binzi D, Hawkey PM. Evolution and spread of SHV extended-spectrum beta-lactamases in gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 1999; 44: 309-318.
- 97.Hernández JR, Pascual A, Cantón R, Martínez-Martínez L. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIHBLEE 2000). *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003; 21: 77-82.
- 98.Hernández JR, Velasco C, Romero L, *et al.* Comparative in vitro activity of ertapenem against extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in Spain. *Int J Antimicrob Agents.* 2006; 28: 457–459.
- 99.Hilf M, Yu Vh, Sharp J, Zuravleff, *et al.* Antibiotic therapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: outcome correlations in a prospective study of 200 patients. *Am J Med,* 1989; 87: 540-546.

100. Hirakata Y, Matsuda J, Miyazaki *et al.* Regional variation in the prevalence of extended-spectrum-beta-lactamase-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region (SENTRY 1998-2002). *Diagn Microbiol Inf Dis.* 2005; 52: 323-329.
101. Ho PL, Chan WM, Tsang KW, *et al.* Bacteremia caused by *Escherichia coli* producing extended-spectrum betalactamase: a case-control study of risk factors and outcomes. *Scand J Infect Dis.* 2001; 34: 567-573.
102. Hoban DJ, Bouchillon SK, Hawser SP, *et al.* Susceptibility of gram-negative pathogens isolated from patients with complicated intra-abdominal infections in the United States, 2007-2008: results of the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *Antimicrob Agents Chemother.* 2010; 54: 3031-3034.
103. Hsueh PR. Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) in the Asia-Pacific region, 2002-2010. *Int J Antimicrob Agents.* 2012; 40 Suppl: S1-3.
104. Hyle EP, Lipworth AD, Zaoutis TE, Nachamkin I, *et al.* Impact of inadequate initial antimicrobial therapy on mortality in infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae: variability by site of infection. *Arch Intern Med.* 2005; 165: 1375-1380.
105. Ibrahim EH, Sherman G, Ward S, *et al.* The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. *Chest.* 2000; 118: 146-55.
106. Jacoby GA, Vacheva-Dobrevsky R. Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases in Sofia, Bulgaria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2003; 22: 385-388.

107. Jones CH, Tuckman M, Keeney D, *et al.* Characterization and sequence analysis of extended-spectrum-beta-lactamase-encoding genes from *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* isolates collected during tigecycline phase 3 clinical trials. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53: 465-75.
108. Jones RN, Kirby JT, Rhomberg PR. Comparative activity of meropenem in US medical centers (2007): initiating the 2nd decade of MYSTIC program surveillance. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008;61: 203-213.
109. Kang CI, Cheong HS, Chung DR, *et al.* Clinical features and outcome of community-onset bloodstream infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2008; 27: 85-88.
110. Kang CI, Chung DR, Ko KS, *et al.*; Korean Network for Study of Infectious Diseases. Risk factors for infection and treatment outcome of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in patients with hematologic malignancy. *Ann. Hematol.* 2012; 91: 115-121.
111. Kang CI, Kim DM, Park WB, *et al.* Risk factors for and clinical outcomes of bloodstream infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2004; 25: 860-867.
112. Kang CI, Kim SH, Park WB *et al.* Bloodstream infections due to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for mortality and treatment outcome, with special emphasis on antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48: 4574-4581.



113. Kang CI, Song JH, Chung DR *et al.* Risk factors and treatment outcomes of community-onset bacteraemia caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Int J Antimicrob Agents*. 2010; 36: 284–287.
114. Karisik E, Ellington MJ, Livermore DM, Woodford N. Virulence factors in *Escherichia coli* with CTX-M-15 and other extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in UK. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 61: 54–50.
115. Karisik E, Ellington MJ, Pike R, *et al.* Molecular characterization of plasmids encoding CTX-M-15  $\beta$ -lactamases from *Escherichia coli* strains in the United Kingdom. *J Antimicrob Chemother*. 2006; 58: 665–668.
116. Kassis-Chikhani N, Decre D, Gautier V, *et al.* First outbreak of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* carrying blaVIM-1 and blaSHV-5 in a French university hospital. *J Antimicrob Chemother*. 2006; 57: 142–145.
117. Kim BN, Woo JH, Kim MN, *et al.* Clinical implications of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia. *J Hosp Infect*. 2002; 52: 99–106.
118. Kim J, Lim YM, Jeong YS, Seol SY. Occurrence of CTX-M-3, CTX-M-15, CTX-M-14, and CTX-M-9 extended-spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae clinical isolates in Korea. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49: 1572–1575.
119. Kim YK, Pai H, Lee HJ, *et al.* Bloodstream infections by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: Epidemiology and clinical outcome. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46: 1481–1491.
120. Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, *et al.* Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother*. 1985; 28: 302–307.

121. Kollef MH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ. Inadequate antimicrobial treatment of infections: A risk factor for hospital mortality among critical ill patients. *Chest*. 1999; 115: 462-467.
122. Kollef MH. Inadequate Antimicrobial Treatment: An Important Determinant of Outcome for Hospitalized Patients. *Clin Infect Dis*. 2000; 31: 131-138.
123. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, *et al*. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis* 2010; 10: 597-602.
124. Lahey Clinic. Disponible en <http://www.lahey.org/studies>.
125. Laksai Y, Severino M, Perilli M, *et al*. First identification of a SHV-12 extended-spectrum beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* isolated in Italy. *J Antimicrob Chemother*. 2000; 45: 349-351.
126. Lavigne JP, Blanc-Potard AB, Bourg G. *et al*. Virulence genotype and nematode-killing properties of extra-intestinal *Escherichia coli* producing CTX-M  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Infect*. 2006; 12: 1199-1206.
127. Leavitt A, Navon-Venezia S, Chmelnitsky I, Schwaber MJ, Carmeli Y. Emergence of KPC-2 and KPC-3 in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains in an Israeli hospital. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51: 3026-3029.
128. Lee CC, Chen SY, Chang IJ, *et al*. Comparison of clinical manifestations and outcome of community-acquired bloodstream infections among the oldest old, elderly, and adult patients. *Medicine*. 2007; 86: 138-44.

129. Lee NY, Lee CC, Huang WH, *et al.* Cefepime therapy for monomicrobial bacteremia caused by cefepime-susceptible extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: MIC matters. *Clin Infect Dis.* 2013; 56: 488-495.
130. Lee SH, Kim J, Shin SH, An YJ, *et al.* Dissemination of SHV-12 and characterization of new AmpC-type beta-lactamase genes among clinical isolates of enterobacter species in Korea. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 2477-2482.
131. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, *et al.* 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definition Conference. *Crit Care Med.* 2003; 31: 1250-1256.
132. Lewis JS II, Herrera M, Wickes B, *et al.* First report of the emergence of CTX-M-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) as the predominant ESBL isolated in a U.S. health care system. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 51: 4015-4021.
133. Li J, Nation RL, Turnidge JD, *et al.* Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis.* 2006; 6: 589-601.
134. Lipsky AB, Berend AR, Deery G, *et al.* Diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clin Infect Dis.* 2004; 39: 885-910.
135. Solomkin JS, Mazuski JE, Baron EJ, *et al.* Guidelines for the selection of anti-infective agents for complicated intra- abdominal infections. *Clin Infect Dis.* 2003; 37: 997-1005.

136. Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, *et al.* CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59: 165-174.
137. Livermore DM, Hawkey PM. CTX-M: changing the face of ESBLs in the UK. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 451-454.
138. Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1995; 8: 557-584.
139. Livermore DM. Tigecycline: what is it, and where should it be used? *J Antimicrob Chemother.* 2005; 56: 611-614.
140. Loder E, Groves T, MacAuley D. Registration of observational studies. The next step towards research transparency. *BMJ* 2010; 340: c950.
141. López-Cerero L, Picón E, Morillo C, *et al.* Comparative assessment of inoculum effects on the antimicrobial activity of amoxicillin/clavulanate and piperacillin/tazobactam with ESBL-producing and non-producing *Escherichia coli* isolates. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 132-136.
142. Loza Fernández de Bobadilla E, Planes Reig A, Rodríguez Creixems M. 3a. Hemocultivos. En: *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* Editores: Cercenado E y Cantón R. 2003. Disponible en: <http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia>.
143. MacGowan A. Breakpoints for extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: pharmacokinetic/pharmacodynamic considerations. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14 (Suppl 1): 166-168.
144. Maraki S, Samonis G, Rafailidis PI, *et al.* Susceptibility of urinary tract bacteria to fosfomycin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53: 4508-4510.

145. Marchandin H, Carriere C, Sirot D, Pierre HJ, Darbas H. TEM-24 produced by four different species of Enterobacteriaceae, including *Providencia rettgeri* in a single patient. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1999; 43: 2069-2073.
146. Marcos M, Soriano A, Martínez JA, Mensa J. Septic shock should be included in multivariable models analyzing the effect of empirical antibiotic therapy on mortality. Clin Infect Dis. 2007; 45: 1401.
147. Marra AR, Bearman GM, Wenzel RP, Edmond MB. Comparison of severity of illness scoring systems for patients with nosocomial bloodstream infection due to *Pseudomonas aeruginosa*. BMC Infect Dis. 2006; 6: 132.
148. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. N Engl J Med. 2003; 348: 1546-1554.
149. Martínez-Martínez L, Calvo J. The growing problem of antibiotic resistance in clinically relevant Gram-negative bacteria: current situation. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2010; Suppl 2: 25-31.
150. McArthur RD, Miller M, Albertson T, Panacek E, Johnson D, Teoh L, et al. Adequacy of Early Empiric Antibiotic Treatment and Survival in Severe Sepsis: Experience from the MONARCS Trial. Clin Infect Dis. 2004; 38: 284-288.
151. McCabe WR, Jackson GG. Gram-negative bacteriemia I. Etiology and ecology. Arch Intern Med. 1962; 110: 847-55
152. McGregor J, Rich SE, Harris AD, Perencevich EN, Osih R, Lodise TP, et al. A Systematic Review of the Methods Used to Assess the Association between Appropriate Antibiotic Therapy and Mortality in Bacteremic Patients. Clin Infect Dis. 2007; 45: 329-337.

153. Melzer M, Petersen I. Mortality following bacteraemic infection caused by extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *E. coli* compared to non- ESBL producing *E. coli*. J Infect. 2007; 55: 254-259.
154. Mentec H, Vallois JM, Bure LA, Saleh-Mghir A, Jehl LF, Carbon C. Piperacillin, tazobactam, and gentamicin alone or combined in an endocarditis model of infection by a TEM-3-producing strain of *Klebsiella pneumoniae* or its susceptible variant. Antimicrob Agents Chemother 1992; 36: 1883-1889.
155. Mesa RJ, Blanc V, Blanch AR, *et al.* Extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae in different environments (humans, food, animal farms and sewage). J Antimicrob Chemother. 2006; 58: 211-215.
156. Metan G, Zarakolu P, Cakir B, *et al.* Clinical outcomes and therapeutic options of bloodstream infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. Int J Antimicrob Agents. 2005; 26: 254-257.
157. Miranda G, Castro N, Leanos B, *et al.* Clonal and horizontal dissemination of *Klebsiella pneumoniae* expressing SHV-5 extended-spectrum beta-lactamase in a Mexican pediatric hospital. Clin Microbiol. 2004; 42: 30-35.
158. Mirelis B, Navarro F, Miro E, *et al.* Community transmission of extended-spectrum beta-lactamase. Emerg Infect Dis. 2003; 9: 1024-1025.
159. Mora A, Blanco M, Lopez C, *et al.* Emergence of clonal groups O1:HNM-D-ST59, O15:H1-D-ST393, O20:H34/HNM-D- ST354, O25b:H4-B2-ST131 and ONT:H21,42-B1-ST101 among CTX-M-14-producing *Escherichia coli* clinical isolates in Galicia, northwest Spain. Int J Antimicrob Agents. 2011; 37: 16-21.

160. Morosini MI, Garcia-Castillo M, Coque TM, *et al.* Antibiotic coresistance in extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae and in vitro activity of tigecycline. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50: 2695-9.
161. Mulvey MR, Bryce E, Boyd D, *et al.* Ambler class A extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in Canadian hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2004; 48: 1204-1214.
162. Murray PR, editor. *Manual of clinical microbiology.* Washington (D.C.): ASM Press. 2007.
163. Naseer U, Natås OB, Haldorsen BC, *et al.* Nosocomial outbreak of CTX-M-15-producing *E. coli* in Norway. *APMIS.* 2007; 115: 120-126.
164. Nauvmoski L, Quinn JP, Miyashiro D *et al.* Outbreak of ceftazidime resistance due to a novel extended-spectrum beta-lactamase in isolates from cancer patients. *Antimicrob Agents Chemoter.* 1992; 36: 1991-1996.
165. Navon-Venezia S, Leavitt A, Schwaber MJ, Rasheed JK, Srinivasan A, Patel JB, *et al.* First report on a hyperepidemic clone of KPC-3-producing *Klebsiella pneumoniae* in Israel genetically related to a strain causing outbreaks in the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53: 818-820.
166. Neonakis IK, Scoulica EV, Dimitriou SK, Gikas AI, Tselentis YJ. Molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases produced by clinical isolates in a university hospital in Greece: detection of SHV-5 in *Pseudomonas aeruginosas* and prevalence of SHV-12. *Microb Drug Resist.* 2003; 9: 161-165.
167. Nicolau DP, Carmeli Y, Crank CW, *et al.* Carbapenem stewardship: does ertapenem affect *Pseudomonas* susceptibility to other carbapenems? A review of the evidence. *Int J Antimicrob Agents.* 2012; 39: 11-15.

168. Ortega M, Almela M, Martinez JA, Marco F, *et al.* Epidemiology and outcome of primary community-acquired bacteremia in adult patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2007; 26: 453-457.
169. Ortega M, Marco F, Soriano A, *et al.* Analysis of 4.758 *Escherichia coli* bacteraemia episodes: predictive factors for isolation of an antibiotic-resistenat strain and their impact on the outcome. *J Antimicrob Chemother.* 2009; 63: 568-574.
170. Oteo J, Navarro C, Cercenado E, *et al.* Spread of *Escherichia coli* strains with high-level cefotaxime and ceftazidime resistance between the community, long-term care facilities, and hospital institutions. *J Clin Microbiol.* 2006; 44: 2359-66.
171. Overdevest IT, Heck M, van der Zwaluw K, Huijsdens X, van Santen M, Rijnsburger M, Eustace A, Xu L, Hawkey P, Savelkoul P, Vandenbroucke-Grauls C, Willemsen I, van der Ven J, Verhulst C, Kluytmans JA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Klebsiella* spp. in chicken meat and humans: a comparison of typing methods. *Clin Microbiol Infect.* 2014; 20: 251-255.
172. Palmer Pol LA y Losilla Vidal JM. El modelo de azar proporcional: la regresión de Cox. *Revista de teoría, investigación y práctica educativa.* ISSN 1130-5371. 1991, pag 47.
173. Palucha A, Mikiewicz B, Gniadkowski M. Diversification of *Escherichia coli* expressing an SHV-type extended-sprectum beta-lactamase (ESBL) during a hospital outbreak: emergence of an ESBL-hyperproducing strain resistant to expnded-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999; 43: 393-396.



174. Park SH, Choi SM, Lee DG *et al.* Emergence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* as a cause of community-onset bacteremia in South Korea: risk factors and clinical outcomes. *Microb. Drug Resist.* 2011; 17: 537–544.
175. Paterson D, Singh N, Rihs J, *et al.* Control of an outbreak of infection due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in a liver transplantation unit. *Clin Infect Dis.* 2001; 33: 126–128.
176. Paterson D.L, Yu VL. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a call for improved detection and control. *Clin Infect Dis.* 1999; 29:1419–1422.
177. Paterson DL, Bonomo R. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18:657–686.
178. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, *et al.* Antibiotic therapy for *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of production of extended-spectrum-beta-lactamases. *Clin Infect Dis.* 2004; 39: 31–37.
179. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, *et al.* International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of extended-spectrum beta-lactamase production in nosocomial infections. *Ann Intern Med.* 2004; 140: 26–32.
180. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, *et al.* Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol.* 2001; 39: 2206–2212.
181. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, *et al.* Antibiotic therapy for *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of production of extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Infect Dis.* 2004; 39: 31–37.
-

182. Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM, *et al.* Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum beta-lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. Clin Infect Dis. 2000; 30: 473-478.
183. Paterson DL, Singh N, Gayowski T, Marino IR.. Fatal infection due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: implications for antibiotic choice for spontaneous bacterial peritonitis. Clin Infect Dis. 1999; 28: 683– 684.
184. Peirano G, Pitout JD. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing CTX-M beta-lactamases: the worldwide emergence of clone ST131 O25:H4. Int J Antimicrob Agents. 2010; 35: 316-321.
185. Peleg AY, Potoski BA, Rea R *et al.* *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection while receiving tigecycline: a cautionary report. J. Antimicrob. Chemother. 2007; 59: 128–131.
186. Peña C, Gudiol C, Calatayud L, *et al.* Infections due to *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamase among hospitalised patients: factors influencing mortality. J Hosp Infect. 2008; 68: 116-122.
187. Peña C, Pujol M, Ardanuy C, Ricart A, Pallarés R, Liñares J, Ariza J, Gudiol F. Epidemiology and successful control of large outbreak due to *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 1998; 42: 53-58.
188. Peña C, Pujol M, Ardanuy C, Ricart A, Pallarés R, Liñares J, Ariza J, Gudiol F. An outbreak of hospital-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia, including strains producing extended-spectrum beta-lactamase. J Hosp Infect. 2001; 47: 53-59.
-

189. Peralta G, Lamelo M, Alvarez-García P, Velasco M, *et al*. Impact of empirical treatment in extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. bacteremia. A multicentric cohort study. *BMC Infect Dis*. 2012 ; 12: 245.
190. Peralta G, Sanchez MB, Garrido JC, De Benito I, Cano ME, Martinez-Martinez L. Impact of antibiotic resistance and of adequate empirical antibiotic treatment in the prognosis of patients with *Escherichia coli* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother*. 2007; 60: 855–863.
191. Perez F, Endimiani A, Hujer KM *et al*. The Continuing Challenge of ESBLs. *Curr Opin Pharmacol*. 2007; 7: 459-469.
192. Pérez F. and Bonomo RA. Can We Really Use  $\beta$ -Lactam/ $\beta$ -Lactam Inhibitor Combinations for the Treatment of Infections Caused by Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase–Producing Bacteria?. *Clin Infect Dis* 2012; 54: 175-177.
193. Perilli M, Dell’Amico E, Segatore B, *et al*. Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamases produced by nosocomial isolates of enterobacteriaceae from an Italian nationwide survey. *J Clin Microbiol*. 2002; 40: 611-614.
194. Peterson LR. Antibiotic policy and prescribing strategies for therapy of extended spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: the role of piperacillin-tazobactam. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 181-184
195. Pitout JD, Gregson DB, Church DL, Elsayed S, Laupland KB. Community-wide outbreaks of clonally related CTX-M-14 beta-lactamase producing *Escherichia coli* strains in the Calgary health region. *J Clin Microbiol*. 2005; 43: 2844-2849.

196. Pitout JD, Hanson ND, Church DL, Laupland KB. Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: importance of community isolates with blaCTX-M genes. Clin Infect Dis. 2004; 38: 1736-1741.
197. Pitout JD, Hossain A, Hanson ND. Phenotypic and molecular detection of CTX-M-beta-lactamases produced by *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. J Clin Microbiol. 2004; 42: 5715-5721.
198. Pitout JD, Le P, Church DL, et al. Antimicrobial susceptibility of well-characterised multiresistant CTX-M-producing *Escherichia coli*: failure of automated systems to detect resistance to piperacillin/tazobactam. Int J Antimicrob Agents. 2008; 32: 333-338.
199. Pitout JD, Nordmann P, Laupland KB, Poirel L. Emergence of enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in the community. J Antimicrob Chemother. 2005; 56: 52-59.
200. Pitout JDD, Laupland KB. Extended-spectrum  $\beta$ -Lactamase- producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. Lancet infect Dis 2008; 8: 159-166.
201. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. nosocomial pathogens epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev. 1998; 11: 589-603.
202. Pujol M, Peña C. El significado clínico de las beta-lactamasas de espectro extendido. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2003; 21: 69-71.
203. Pullukcu H, Tasbakan M, Sipahi OR, et al. Fosfomycin in the treatment of extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*-related lower urinary tract infections. Int J Antimicrob Agents. 2007; 29: 62-65.

204. Qiao LD, Chen S, Yang Y, Zhang K, Zheng B, Guo HF, *et al.* Characteristics of urinary tract infection pathogens and their in vitro susceptibility to antimicrobial agents in China: data from a multicenter study. *BMJ Open* 2013; 3: e004152.
205. Quelle LS, Catalano M. Efficacy of two DNA finger printing methods for typing *Acinetobacter baumannii* isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2001; 39: 215-223.
206. Ramphal R. and Ambrose P.G. Extended-Spectrum b-Lactamases and Clinical Outcomes: Current Data. *Clin Infect Dis* 2006;42 Suppl 4:S164-72.
207. Raymond NJ, Blackmore TK, Humble MW and Jones MR. Bloodstream infections in a secondary and tertiary care hospital setting. *Int Med J.* 2006; 36: 765-772.
208. Retamar P, López-Cerero L, Muniain MA, Pascual Á, Rodríguez-Baño J; ESBL-REIPI/GEIH Group. Impact of the MIC of piperacillin-tazobactam on the outcome of patients with bacteremia due to extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013; 57: 3402-3404.
209. Retamar P, Portillo MM, López-Prieto MD, *et al.* Impact of inadequate empirical therapy on the mortality of patients with bloodstream infections: a propensity score-based analysis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012; 56: 472-478.
210. Rhee JY, Kwon KT, Ki HK, Shin SY, Jung DS, Chung DR, *et al.* Scoring systems for prediction of mortality in patients with intensive care unit-acquired sepsis: a comparison of the Pitt bacteremia score and the Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II scoring systems. *Shock.* 2009; 31:146-150.

211. Rice LB, Carias LL, Shlaes DM. In vivo efficacies of beta-lactam-betalactamase inhibitor combinations against a TEM-26-producing strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 2663-2664.
212. Rice LB, Eckstein EC, De Vente J, Sales DM: Ceftazidime- resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates recovered at the Cleveland Department of Veterans Affairs Medical Center. *Clin Infect Dis*. 1996;23: 118-124.
213. Rodríguez-Baño J, Alcalá J, Cisneros JM, *et al.* *Escherichia coli* producing SHV-type extended-spectrum beta-lactamase is a significant cause of community-acquired infection. *J Antimicrob Chemother*. 2009; 63: 781-784.
214. Rodríguez-Baño J, Alcalá JC, Cisneros JM, *et al.* Community infections caused by extended-spectrum beta- lactamase-producing *Escherichia coli*. *Arch Intern Med*. 2008; 168: 1897-1902.
215. Rodríguez-Baño J, Cisneros JM, Cobos-Trigueros N, *et al.* Diagnosis and antimicrobial treatment of invasive infections due to multidrug-resistant Enterobacteriaceae. Guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2015. pii: S0213-005X(14)00390-5. doi: 10.1016/j.eimc.2014.11.009.
216. Rodriguez-Baño J, Lopez-Cerero L, Navarro MD, *et al.* Faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: Prevalence, risk factors and molecular epidemiology. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 62: 1142-1149.
217. Rodríguez-Baño J, López-Prieto MD, Portillo MM, *et al.* Epidemiology and clinical features of community-acquired, healthcare-associated and nosocomial bloodstream infections in tertiary-care and community hospitals. *Clin Microbiol Infect*. 2010; 16: 1408-1413.

218. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Retamar P, *et al.*  $\beta$ -Lactam/ $\beta$ -Lactam Inhibitor Combinations for the Treatment of Bacteremia Due to Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli*: A Post Hoc Analysis of Prospective Cohorts. Clin Infect Dis 2012; 54: 167–174.
219. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, *et al.* Bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in the CTX-M era: a new clinical challenge. Clin Infect Dis. 2006;43: 1407-1414.
220. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, *et al.* Clinical and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* as a cause of nosocomial infection or colonization: Implications for control. Clin Infect Dis. 2006; 42: 37-45.
221. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, *et al.* Epidemiology and clinical features of infections caused by extended- spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in non hospitalized patients J Clin Microbiol 2004; 42: 1089-1094.
222. Rodríguez-Baño J, Pascual A, Gálvez J, Muniain MA, Ríos MJ, *et al.* *Acinetobacter baumannii* bacteremia: clinical and prognostic features. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2003; 21: 242-247.
223. Rodríguez-Baño J, Pascual A. Clinical significance of extended-spectrum  $\beta$ -Lactamases. Expert Rev Anti Infect Ther 2008; 6: 671-683.
224. Rodríguez-Baño J, Paterson DL. A change in the epidemiology of infections Due to Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Organisms.Clin Infect Dis. 2006; 42: 935-937.
225. Rodríguez-Baño J, Picón E, Gijón P, *et al.* Community-onset bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: risk factors and prognosis. Clin. Infect. Dis. 2010; 50: 40–48.
-

226. Rodríguez-Baño J, Picón E, Navarro MD, *et al.* Impact of changes in CLSI and EUCAST breakpoints for susceptibility in bloodstream infections due to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli*. Clin Microbiol Infect. 2012; 18: 894-900.
227. Rodríguez-Creixems M, Alcalá L, Muñoz P, *et al.* Bloodstream Infections. Evolution and Trends in the Microbiology Workload, Incidence, and Etiology, 1985–2006. Medicine 2008; 87: 234–249.
228. Romero L, López L, Martínez-Martínez L, *et al.* Characterization of the first CTX-M-14 producing *Salmonella enterica* serotype Enteritidis isolate. J Antimicrob Chemother. 2004; 53: 1113-1114.
229. Romero L, López L, Rodríguez-Baño J, *et al.* Long-term study of the frequency of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates. Clin Microbiol Infect. 2005; 11: 625–631.
230. Rottier WC, Ammerlaan HS, Bonten MJ. Effects of confounders and intermediates on the association of bacteraemia caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae and patient outcome: a meta-analysis. J Antimicrob Chemother. 2012; 67: 1311-1320.
231. Ruiz de Alegría C, Rodríguez-Baño J, Cano ME, *et al.* *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain: microbiological and clinical features. J Clin Microbiol. 2011; 49: 1134-1136.
232. Sabaté M, Miró E, Navarro F, *et al.* Beta-lactamases involved in resistance to broad-spectrum cephalosporins in *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. clinical isolates collected between 1994 and 1996, in Barcelona (Spain). J Antimicrob Chemother. 2002;49: 989-997.



233. Salso S, Culebras E, Andrade R, Picazo JJ. Outbreak of TEM-24- producing *Enterobacter aerogenes* in a Spanish hospital. *Microb Drug Resist.* 2003; 9: 299-305.
234. Schiappa DA, Hayden MK, Matushek MG, *et al.* Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* bloodstream infection: A case-control and molecular epidemiologic investigation. *J Infect Dis.* 1996; 174: 529-536.
235. Schwaber MJ, Carmeli Y. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. A potential threat. *JAMA* 2008; 300: 2911-2913.
236. Schwaber MJ, Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2007; 60: 913-920.
237. Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Kaye KS, *et al.* Clinical and economic impact of bacteremia with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50: 1257-1262.
238. Senol S, Tasbakan M, Pullukcu H, *et al.* Carbapenem versus fosfomycin tromethanol in the treatment of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*-related complicated lower urinary tract infection. *J Chemother.* 2010; 22: 355-357.
239. Shi H, Sun F, Chen J, *et al.* Epidemiology of CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing nosocomial - *Escherichia coli* infection in China. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2015; 14: 4.

240. Shiber S, Yahav D, Avni T, Leibovici L, Paul M. Beta-lactam/beta-lactam inhibitors versus carbapenems for the treatment of sepsis: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Antimicrob Chemother.* 2015; 70: 41-47.
241. Shorr AF, Tabak YP, Killian A, Gupta V, Liu L, Kollef M. Healthcare-associated bloodstream infection: A distinct entity? Insights from a large U.S. database. *Crit Care Med.* 2006; 34: 2588.
242. Sobel JD, Kaye D. Urinary tract infections. In: Mandell, Douglas, and Bennett's. Principles and practice of infectious diseases 5th edition. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Churchill Livingstone, Philadelphia, PN. 2000; 773-805.
243. Solomkin JS, Mazuski JE, Baron EJ, *et al.* Guidelines for the selection of anti-infective agents for complicated intra-abdominal infections. *Clin Infect Dis.* 2003; 37: 997-1005.
244. Stürenburg E, Lang M, Horstkotte MA, *et al.* Evaluation of the MicroScan ESBL plus confirmation panel for detection of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of oxyimino-cephalosporin-resistant Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 2004; 54: 870-875.
245. Tamma PD, Han JH, Rock C, *et al.* Carbapenem therapy is associated with improved survival compared with piperacillin-tazobactam for patients with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase bacteremia. *Clin Infect Dis* 2015. (in press) doi:10.1093/cid/civ003.
246. Tausova D, Dolejska M, Cizek A, *et al.* *Escherichia coli* with extended-spectrum beta-lactamase and plasmid-mediated quinolone resistance genes in great cormorants and mallards in Central Europe. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67: 1103-1107.

247. Teshager T, Domínguez L, Moreno MA, *et al.* Isolation of an SHV-12 beta-lactamase-producing *Escherichia coli* strain from a dog with recurrent urinary tract infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44: 3483-3484.
248. Thauvin-Eliopoulos C, Tripodi MF, Moellering RC Jr, Eliopoulos GM. Efficacies of piperacillin-tazobactam and cefepime in rats with experimental intra-abdominal abscesses due to an extended-spectrum beta-lactamase-producing strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997; 41: 1053-1057.
249. Thomas L, Peterson ED. The value of statistical analysis plans in observational research. Defining high-quality research from the start. *JAMA.* 2012; 308: 773-774.
250. Torrabadella de Reynoso P, Salgado Remigio A. Nuevos tratamientos de la sepsis grave. Una encrucijada científica, económica y ética. *Med Clinic (Barc).* 1999; 113: 18-19.
251. Trecarichi EM, Cauda R, Tumbarello M. Detecting risk and predicting patient mortality in patients with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae bloodstream infections. *Future Microbiol.* 2012; 7: 1173-1189.
252. Tumbarello M, Sali M, Trecarichi EM *et al.* Bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: risk factors for inadequate initial antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008; 52: 3244-3252.
253. Tumbarello M, Sanguinetti M, Montuori E, Trecarichi EM, *et al.* Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: importance of inadequate initial antimicrobial treatment. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 51: 1987-1994.
-

254. Tumbarello M, Sanguinetti M, Montuori E, Trecarichi EM, *et al.* Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: importance of inadequate initial antimicrobial treatment. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 51: 1987-1994.
255. Tumbarello M, Spanu T, Sanguinetti M, *et al.* Bloodstream infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*: risk factors, molecular epidemiology, and clinical outcome. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50: 498-504.
256. Vallés J, Calbo E, Anoro E, Fontanals D, Xercavins M, Espejo E, *et al.* Bloodstream infections in adults: Importance of healthcare-associated infections. *J Infect.* 2008;56:27-34..
257. Vallés J, Rello J, Ochagavía A, Garnacho J, Alcalá MA. Community-acquired bloodstream infection in critically ill adult patients: impact of shock and inappropriate antibiotic therapy on survival. *Chest.* 2003; 123: 1615-1624.
258. Valverde A, Coque TM, Garcia-San Miguel L, *et al.* Complex molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae*: A long-term perspective from a single institution in Madrid. *J Antimicrob Chemother.* 2008; 61: 64-72.
259. Valverde A, Coque TM, Sanchez-Moreno MP, *et al.* Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae during non outbreak situations in Spain. *J Clin Microbiol.* 2004; 42: 4769-4775.
260. Vardakas KL, Tansarli GS, Rafailidis PI, *et al.* Carbapenems versus alternative antibiotics for the treatment of bacteraemia due to Enterobacteriaceae producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67: 2793-2803.
-

261. Velasco C, Romero L, Martínez JM, *et al.* Análisis of plasmoids encoding extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) from *Escherichia coli* isolated from non-hospitalised patients in Seville. *Int J Antimicrob Agents*. 2007; 29: 89-92.
262. Velasco C, Rodríguez-Baño J, García L, *et al.* Eradication of an extensive outbreak in a neonatal unit caused by two sequential *Klebsiella pneumoniae* clones harbouring related plasmids encoding an extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. *J Hosp Infect*. 2009; 73: 157-163
263. Vergara-López S, Domínguez MC, Conejo MC, Pascual Á, Rodríguez-Baño J. Wastewater drainage system as an occult reservoir in a protracted clonal outbreak due to metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella oxytoca*. *Clin Microbiol Infect*. 2013; 19: E490-498.
264. Vidal L, Gafter-Gvili A, Borok S, *et al.* Efficacy and safety of aminoglycoside monotherapy: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Antimicrob Chemother*. 2007; 60: 247-257.
265. Villegas MV, Lolans K, Correa A, *et al.* First detection of the plasmid-mediated class A carbapenemase KPC-2 in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from South America. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50: 2880-2882.
266. von Elm E, Altman D, Egger M, *et al.* for the STROBE Initiative. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE). Statement: Guidelines for Reporting Observational Studies. *Ann Inter Med*. 2007; 147: 573-577.
267. Weill FX, Lailier R, Praud K, *et al.* Emergence of extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-9)-producing multiresistant strains of *Salmonella enterica* serotype Virchow in poultry and humans in France. *J Clin Microbiol*. 2004; 42: 5767-5773.
-

268. Wiener J, Quinn JP, Bradford PA, Goering RV, Natathan C, Bush K *et al.* Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in nursing homes. JAMA. 1999; 281: 517-23.
269. Winocur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. Variations in the prevalence of strain expressing an extended-spectrum beta-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the America, and the Western Pacific Region. Clin Infect Dis. 2001; 32(suppl 2): S94-S103.
270. Wisplinghoff H, Bischoff T, Talent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide study. Clin Infect Dis. 2004; 39: 309-317.
271. Wong-Beringer A, Hindler J, Loeloff M, *et al.* Molecular correlation for the treatment outcomes in bloodstream infections caused by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with reduced susceptibility to ceftazidime. Clin Infect Dis. 2002; 34: 135-146.
272. Woodford N, Ward ME, Kaufmann ME, *et al.* Community and hospital spread of *Escherichia coli* producing CTX-M extended-spectrum beta- lactamases in the UK. J Antimicrob Chemother. 2004; 54: 735-743.
273. Wu UI, Chen WC, Yang CS, *et al.* Ertapenem in the treatment of bacteremia caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: A propensity score analysis. Int J Infect Dis. 2012; 16: e47-52.
274. Yoon YK, Cheong HW, Pai H, Roh KH, Kim JY, Park DW, *et al.* Molecular analysis of a prolonged spread of *Klebsiella pneumoniae* co-producing DHA-1 and SHV-12 beta-lactamases. J Microbiol. 2011; 49: 363-368.
275. Young LS. Sepsis syndrome. En: Principles and Practice of Infectious Diseases. Mandell, Douglas, and Bennett's ed. Churchill Livingstone. Fifth edition, New York, 2000; 806-818.

276. Zhang J, Zheng B, Zhao L, *et al.* Nationwide high prevalence of CTX-M and an increase of CTX-M-55 in *Escherichia coli* isolated from patients with community-onset infections in Chinese county hospitals. *BMC Infect Dis.* 2014; 14: 659.
277. Zimhony O, Chmelnitsky I, Bardenstein R, *et al.* Endocarditis caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*: emergence of resistance to ciprofloxacin and piperacillin-tazobactam during treatment despite initial susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50: 3179–3182.





**ANEXOS**



**ANEXO I**

- **Resolución AEMPS**
- **Aprobación Comité de Ética Hospital Virgen Macarena**
- **Inscripción en [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov)**



**ASUNTO: RESOLUCIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE CLASIFICACIÓN DE ESTUDIO CLÍNICO O EPIDEMIOLÓGICO**

**DESTINATARIO: D<sup>a</sup> BELEN GUTIERREZ GUTIERREZ**

Vista la solicitud-propuesta formulada con fecha **23 de septiembre de 2012**, por **D<sup>a</sup> BELEN GUTIERREZ GUTIERREZ**, para la clasificación del estudio titulado **"An Internacional Consortium for the clinical study of bloodstream infections caused by multidrug-resistant Enterobacteriaceae"**, con código **JRB-ANT-2012-01**, y cuyo promotor es **D. JESUS RODRIGUEZ BAÑO**, se emite resolución.

La Subdirección General de Medicamentos de Uso Humano de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), de conformidad con los preceptos aplicables, <sup>(1)</sup> **RESUELVE** clasificar el estudio citado anteriormente como **"Estudio Posautorización con Otros Diseños diferentes al de seguimiento prospectivo"** (abreviado como EPA-OD).

Para el inicio del estudio no se requiere la autorización previa de ninguna autoridad competente (AEMPS o CCAA)<sup>(2)</sup>. No obstante, salvo que haya sido presentada para la clasificación del estudio, el promotor deberá remitir a la AEMPS <sup>(3)</sup> la siguiente documentación antes del inicio del estudio:

- Protocolo completo (una copia en papel y otra en formato electrónico), incluidos los anexos, y donde conste el número de pacientes que se pretenden incluir en España, desglosado por Comunidad Autónoma.
- Dictamen favorable del estudio por un CEIC acreditado en España.



Contra la presente resolución que pone fin a la vía administrativa podrá interponerse Recurso Potestativo de Reposición, ante la Directora de la Agencia, en el plazo de un mes a contar desde el día siguiente a aquel en que tenga lugar la notificación de la presente resolución. <sup>(4)</sup>

Madrid, a 26 de septiembre de 2012

EL JEFE DE DEPARTAMENTO DE  
MEDICAMENTOS DE USO HUMANO

agencia española de  
medicamentos y  
productos sanitarios  
Departamento de Medicamentos de Uso Humano

César Hernández García

<sup>1</sup> Son de aplicación al presente procedimiento la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, de Régimen Jurídico de las Administraciones Públicas y del Procedimiento Administrativo Común; la Ley 12/2000, de 29 de diciembre, de medidas fiscales, administrativas y de orden social; la Ley 29/2006, de 26 de julio, de Garantías y Uso Racional de los Medicamentos y Productos Sanitarios; el Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos; el Real Decreto 1275/2011, de 16 de septiembre, por el que se crea la Agencia estatal "Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios" y se aprueba su estatuto; el Real Decreto 1344/2007, de 11 de octubre, por el que se regula la farmacovigilancia de medicamentos de uso humano y la Orden SAS/3470/2009, de 16 de diciembre, por la que se publican las directrices sobre estudios posautorización de tipo observacional para medicamentos de uso humano.

<sup>2</sup> De acuerdo con la Orden SAS/3470/2009, de 16 de diciembre

<sup>3</sup> Los documentos se enviarán a la siguiente dirección postal: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. División de Farmacoepidemiología y Farmacovigilancia. Parque Empresarial "Las Mercedes", Edificio 8. C/ Campezo, 1. 28022 Madrid.

<sup>4</sup> De conformidad con lo dispuesto en los artículos 116 y 117 de la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, o Recurso Contencioso-Administrativo ante el Juzgado Central de lo Contencioso-Administrativo de Madrid, en el plazo de dos meses contados desde el día siguiente al de la notificación de la presente resolución, de conformidad con la Ley 29/1998, de 13 de julio, reguladora de la Jurisdicción Contencioso-Administrativa, sin perjuicio de poder ejercitar cualquier otro recurso que se estime oportuno. En caso de interponerse recurso de reposición no podrá interponerse recurso contencioso-administrativo hasta la resolución expresa o presunta del primero.



10 de octubre de 2012

## COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE CENTRO HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN MACARENA

Dr. Victor Sánchez Margalet, Secretario del Comité de Ética de la Investigación de Centro H.U. Virgen Macarena

### CERTIFICA

Que el Comité de Ética de la Investigación de Centro H.U. Virgen Macarena en su reunión del día 28/09/2012, ha evaluado la propuesta del promotor referida al estudio:

**Título:** An International Consortium for the clinical study of bloodstream infections caused by multidrug-resistant Enterobacteriaceae (INCREMENT): Multidrug-resistant Impact of specific antimicrobials and MIC values on the outcome of bloodstream infections due to ESBL or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: an observational multinational study.

**Código Interno:** 1921

**Promotor:** Investigador

1º. Considera que

- El estudio se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

2º. Por lo que este Comité de Ética de la Investigación de Centro H.U. Virgen Macarena emite un **DICTAMEN FAVORABLE**.

3º. Este Comité de Ética de la Investigación de Centro H.U. Virgen Macarena acepta que dicho estudio sea realizado en los siguientes CEI/Centros por los Investigadores:

CEIC Hospital Universitario Virgen Macarena	D. Alvaro T. Pascual Hernández (Microbiología y Parasitología) Hospital Virgen Macarena
	Jesús Rodríguez Baños (Enfermedades Infecciosas) Hospital Virgen Macarena

Lo que firmo en Sevilla, a 10 de octubre de 2012

Fdo:

Dr. Víctor Sánchez Margalet  
Secretario del CEIC Hospital Universitario Virgen Macarena



Trial record **2 of 9** for: carbapenemase[Previous Study](#) | [Return to List](#) | [Next Study](#)**Impact of Specific Antimicrobials and MIC Values on the Outcome of Bloodstream Infections Due to Extended-spectrum Beta-lactamase (ESBL) or Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: an Observational Multinational Study (INCREMENT)****This study has been completed.****Sponsor:**

JESUS RODRIGUEZ BAÑO

**Information provided by (Responsible Party):**

JESUS RODRIGUEZ BAÑO, Spanish Network for Research in Infectious Diseases

**ClinicalTrials.gov Identifier:**

NCT01764490

First received: December 26, 2012

Last updated: June 26, 2014

Last verified: June 2014

[History of Changes](#)[Full Text View](#)[Tabular View](#)[No Study Results Posted](#)[Disclaimer](#)[How to Read a Study Record](#)**► Purpose**

Main objective: to observationally assess the efficacy of different antimicrobials in Bloodstream Infection (BSI) due to Enterobacteriaceae producing ESBLs or **carbapenemases**.

Specific objectives:

Bacteraemic infections due to ESBL-producing Enterobacteriaceae:

- To demonstrate that  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactam inhibitors are not associated with worse cure rate and mortality than carbapenems after controlling for confounders, both as empirical and definitive therapy.
- To demonstrate that fluoroquinolones as definitive therapy are not associated with worse cure rate and mortality than carbapenems after controlling for confounders.
- To demonstrate that empirical cephalosporins in monotherapy are associated with worse cure rate and mortality than carbapenems after controlling for confounders in infections others than urinary tract infections.
- To demonstrate that the association of active aminoglycosides with cephalosporins or fluoroquinolones is not associated with worse cure rate and mortality than carbapenems after controlling for confounders.
- To demonstrate that combination empirical and definitive therapy is not associated with better cure rate than monotherapy after controlling for confounders.
- For tigecycline, colistin, and fosfomycin, no hypothesis. The objective is to provide adjusted estimations of their association with outcome variables in comparison with carbapenem monotherapy according to clinical situation and infection.

Bacteraemic infections due to **carbapenemase**-producing Enterobacteriaceae:

- To demonstrate that combination therapy is associated with worse cure rate and mortality than monotherapy after controlling for confounders.
- To show that carbapenems are associated with worse cure rate and mortality when used in infections other than urinary tract caused by isolates showing MIC  $<2$   $\mu\text{g/mL}$  for imipenem or meropenem in comparison to those caused by isolates with higher MIC, after controlling for confounders.
- To show that colistin used at a dose  $>6$  million IU per day is associated with improved outcomes in comparison with lower dose, after controlling for confounders.

**Condition**

Clinically Significant Bacteremia

Study Type: Observational

Study Design: Observational Model: Cohort

Time Perspective: Retrospective

Official Title: Impact of Specific Antimicrobials and Minimal Inhibitory Concentration(MIC) Values on the Outcome of Bloodstream Infections Due to ESBL or **Carbapenemase**-producing Enterobacteriaceae: an Observational Multinational Study

**Further study details as provided by Spanish Network for Research in Infectious Diseases:**

Primary Outcome Measures:

- Cure rate at day 14 [ Time Frame: within the first 14 days after treatment started ] [ Designated as safety issue: No ]
  - Cure: resolution of all signs and symptoms related to the infection, and antibiotic therapy is no longer necessary

#### Secondary Outcome Measures:

- Mortality at 72 hours [ Time Frame: within the first 72 hours ] [ Designated as safety issue: No ]
 

Dead: death of the patient for whatever the reason.
- Mortality at 7 days [ Time Frame: within 7 days after treatment started ] [ Designated as safety issue: No ]
 

Dead: death of the patient for whatever the reason.
- Mortality at 14 days [ Time Frame: within 14 days after treatment started ] [ Designated as safety issue: No ]
 

Dead: death of the patient for whatever the reason.
- Mortality at 30 days [ Time Frame: within 30 days after treatment started ] [ Designated as safety issue: No ]
 

Dead: death of the patient for whatever the reason.
- Clinical Improvement at 72 hours [ Time Frame: within the first 72 hours after treatment started ] [ Designated as safety issue: No ]
 

Improvement: partial control or resolution of signs and symptoms related to the infection, or resolution but antibiotic therapy is still necessary.  
Non-improvement or deterioration: clinical situation qualified as similar or worse in comparison to that at the diagnosis of bacteremia.
- Clinical cure at 28 days [ Time Frame: within 28 days after treatment started ] [ Designated as safety issue: No ]
 

Clinical Cure: resolution of all signs and symptoms related to the infection, and antibiotic therapy is no longer necessary.

Enrollment: 1344  
 Study Start Date: January 2013  
 Study Completion Date: May 2014  
 Primary Completion Date: December 2013 (Final data collection date for primary outcome measure)

 [Show Detailed Description](#)

### Eligibility

Genders Eligible for Study: Both  
 Accepts Healthy Volunteers: No  
 Sampling Method: Probability Sample

#### Study Population

- Episode of clinically-significant monomicrobial BSI due to ESBL or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, including community and nosocomial ones

#### Criteria

##### Inclusion Criteria:

- Episode of clinically-significant monomicrobial BSI due to ESBL or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, including community and nosocomial ones.
  - For ESBL-producers, detection by standard phenotypic method as recommended by CLSI is enough (although PCR-based characterisation is preferred, see below).
  - For carbapenemase-producers, characterisation by at least PCR is necessary (isolates in which carbapenemase production is suspected based on antimicrobial susceptibility profile plus phenotypic tests alone is not acceptable, see below).
- Subsequent episodes in a patient caused by the same microorganism may be included if the interval between them is >3 months.
- No age limits.

##### Exclusion Criteria:

- Polymicrobial or non-clinically significant episodes. Episodes in which a potential contaminant (e.g., coagulase-negative staphylococci) is isolated only in one set of blood cultures and there is not a typical source of infection for that kind of organism (e.g. catheter-related) may be included.
- Unavailability of key data (such cases should be counted to analyse a potential selection bias)
- Episode occurring before January 2004.

### Contacts and Locations

Choosing to participate in a study is an important personal decision. Talk with your doctor and family members or friends about deciding to join a study. To learn more about this study, you or your doctor may contact the study research staff using the Contacts provided below. For general information, see [Learn About Clinical Studies](#).



Please refer to this study by its ClinicalTrials.gov identifier: NCT01764490

## Locations

### Spain

Virgen Macarena University Hospital  
Seville, Andalucia, Spain, 41009

## Sponsors and Collaborators

JESUS RODRIGUEZ BAÑO

## Investigators

Study Chair: JESUS RODRIGUEZ BAÑO, MD, PhD Spanish Network for Research in Infectious Diseases

## More Information

No publications provided

Responsible Party: JESUS RODRIGUEZ BAÑO, GENERAL COORDINATOR, Spanish Network for Research in Infectious Diseases  
ClinicalTrials.gov Identifier: [NCT01764490](#) [History of Changes](#)  
Other Study ID Numbers: REIPI-1WP701, JRB-ANT-2012-01  
Study First Received: December 26, 2012  
Last Updated: June 26, 2014  
Health Authority: Spain: Spanish Agency of Medicines

Keywords provided by Spanish Network for Research in Infectious Diseases:

Bloodstream infections caused by multidrug-resistant Enterobacteriaceae, extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producers, **carbapenemase**-producing organisms

Additional relevant MeSH terms:

Bacteremia	Sepsis
Infection	Systemic Inflammatory Response Syndrome
Bacterial Infections	Anti-Infective Agents
Inflammation	Pharmacologic Actions
Pathologic Processes	Therapeutic Uses

ClinicalTrials.gov processed this record on November 20, 2014

## **ANEXO II**

- **Proyecto de Investigación**
- **Memorandum of understanding Proyecto INCREMENT**
- **Acuerdo de Confidencialidad**

## RESEARCH PROJECT

An International Consortium for the clinical study of bloodstream infections caused by multidrug-resistant Enterobacteriaceae (INCREMENT)

**Impact of specific antimicrobials and MIC values on the outcome of bloodstream infections due to ESBL- or carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: an observational multinational study.**



©Belén Gutiérrez

**Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI)**

## CONFIRMED PARTICIPANTS

Promotor-investigator: Jesús Rodríguez-Baño

Steering Committee		
CENTER	Name	e-mail
Hospital Univ. V. Macarena, Seville, SPAIN	Jesús Rodríguez-Baño	<a href="mailto:jesusrb@us.es">jesusrb@us.es</a>
	Alvaro Pascual	<a href="mailto:apascual@us.es">apascual@us.es</a>
Tel Aviv Sourasky medical center, Tel Aviv, ISRAEL	Yehuda Carmeli	<a href="mailto:yehudac@tlvmc.gov.il">yehudac@tlvmc.gov.il</a>
Louis Stokes Cleveland VA Medical Center, Cleveland, OH, USA	Robert. A. Bonomo	<a href="mailto:Robert.Bonomo@va.gov">Robert.Bonomo@va.gov</a>
Royal Brisbane and Women's Hospital, Herston, AUSTRALIA	David L. Paterson	<a href="mailto:d.paterson1@uq.edu.au">d.paterson1@uq.edu.au</a>

INVESTIGATORS			
CENTER	Name	e-mail	Role
Hospital Univ. V. Macarena, Seville, SPAIN	Marina de Cueto	<a href="mailto:m@marinadecueto.e.telefonica.net">m@marinadecueto.e.telefonica.net</a>	PI
	Juan Gálvez	<a href="mailto:jga@us.es">jga@us.es</a>	I1
	María Dolores del Toro	<a href="mailto:dolotoro2001@yahoo.es">dolotoro2001@yahoo.es</a>	I2
	Belén Gutiérrez	<a href="mailto:belengutiguti@hotmail.com">belengutiguti@hotmail.com</a>	DM
Tel Aviv Sourasky medical center, Tel Aviv, ISRAEL	Mitchell J. Schwaber	<a href="mailto:mitchells@tasmc.health.gov.il">mitchells@tasmc.health.gov.il</a>	PI
		-	
		-	
Louis Stokes Cleveland VA Medical Center, Cleveland, OH, USA	Federico Pérez	<a href="mailto:perezfederico@yahoo.com">perezfederico@yahoo.com</a>	PI
		-	
		-	
Policlinico Umberto I, University of Rome La Sapienza, ITALY	Mario Venditti	<a href="mailto:mario.venditti@uniroma1.it">mario.venditti@uniroma1.it</a>	PI
	Marco Falcone	<a href="mailto:marcofalc@libero.it">marcofalc@libero.it</a>	I1
	Alessandro Russo	<a href="mailto:ale.russo1@alice.it">ale.russo1@alice.it</a>	I2
National and Kapodistrian University of Athens, Laikon General Hospital, Athens, GREECE	L. Daikos	<a href="mailto:gdaikos@med.uoa.gr">gdaikos@med.uoa.gr</a>	PI
		<a href="mailto:gldaikos@gmail.com">gldaikos@gmail.com</a>	
		-	
HYGEIA GENERAL HOSPITAL, Athens, GREECE	Helen Giamarellou	<a href="mailto:e.giamarellou@hygeia.gr">e.giamarellou@hygeia.gr</a>	PI
		-	
		-	
University Hospital, Pratumthani, THAILAND	Anucha Apisarnthanarak	<a href="mailto:anapisarn@yahoo.com">anapisarn@yahoo.com</a>	PI
		-	
		-	
Catholic University of the Sacred Heart, Rome, ITALY	Mario Tumbarello	<a href="mailto:tumbarello@rm.unicatt.it">tumbarello@rm.unicatt.it</a>	PI
	Enrico Maria Trecarichi	<a href="mailto:enricomaria.trecarichi@rm.unicatt.it">enricomaria.trecarichi@rm.unicatt.it</a>	I1
	Angela Raffaella Losito	<a href="mailto:lositoraffaella@yahoo.it">lositoraffaella@yahoo.it</a>	I2
Royal Brisbane and Women's Hospital, Herston, AUSTRALIA	David L. Paterson	<a href="mailto:d.paterson1@uq.edu.au">d.paterson1@uq.edu.au</a>	PI
		-	

		-	
University of Ulsan College of Medicine, Seoul, SOUTH KOREA	Yang Soo Kim	<a href="mailto:yskim@amc.seoul.kr">yskim@amc.seoul.kr</a>	PI
		-	
		-	
Hospital Universitario Virgen Arrixaca de Murcia, SPAIN	Elisa Garcia Vazquez	<a href="mailto:elisag@eresmas.net">elisag@eresmas.net</a>	PI
	Alicia Hernandez Torres	<a href="mailto:malih1@hotmail.com">malih1@hotmail.com</a>	I1
	Joaquin Gómez Gómez	<a href="mailto:joagomez@um.es">joagomez@um.es</a>	I2
Hippokration Hospital Thessaloniki GREECE	Emmanuel Roilides	<a href="mailto:roilides@med.auth.gr">roilides@med.auth.gr</a>	PI
		-	
		-	
University of Pittsburgh USA	Yohei Doi	<a href="mailto:yod4@pitt.edu">yod4@pitt.edu</a>	PI
		-	
		-	
Hospital de Clinicas da Universidade Federal do Parana Curitiba, PR, BRAZIL	Felipe Francisco Tuon	<a href="mailto:flptuon@gmail.com">flptuon@gmail.com</a>	PI
		-	
		-	
NHLS/ Wits School of Pathology, SOUTH AFRICA	Warren Lowman	<a href="mailto:warren.lowman@wits.ac.za">warren.lowman@wits.ac.za</a>	PI
		-	
		-	
National Taiwan University Hospital, TAIWAN	Po-Ren Hsueh	<a href="mailto:hsporen@ntu.edu.tw">hsporen@ntu.edu.tw</a>	PI
		-	
		-	
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau Barcelona SPAIN	Ferran Navarro	<a href="mailto:fnavarrior@santpau.cat">fnavarrior@santpau.cat</a>	PI
	Beatriz Mirelis	-	I1
	Núria Prim	-	I2
University of Cape Town SOUTH AFRICA	Colleen Bamford	<a href="mailto:Colleen.Bamford@uct.ac.za">Colleen.Bamford@uct.ac.za</a>	PI
		-	
		-	
Hospital 12 de Octubre, Madrid, SPAIN	Rafael San Juan Garrido	<a href="mailto:rsanjuan@efd.net">rsanjuan@efd.net</a>	PI
	Mario Fernandez Ruiz	<a href="mailto:mario_fdezruiz@yahoo.es">mario_fdezruiz@yahoo.es</a>	I1
	Julia Origüen Sabater	<a href="mailto:josabater@hotmail.com">josabater@hotmail.com</a>	I2
Hospital Vall d'Hebrón de Barcelona SPAIN	Benito Almirante	<a href="mailto:benitoalmirante@gmail.com">benitoalmirante@gmail.com</a>	PI
	Nieves Larrosa	-	I1
	Mireia Puig	-	I2
Hospital Virgen del Rocío Sevilla SPAIN	José Miguel Cisneros	<a href="mailto:jmcisnerosh@gmail.com">jmcisnerosh@gmail.com</a>	PI
	José Molina Bermejo	-	I1
	Verónica González Galán	-	I2
Hospital Español, Rosario, ARGENTINA	Joaquín Bermejo	<a href="mailto:jbermejo@arnet.com.ar">jbermejo@arnet.com.ar</a>	PI
		-	
		-	
Hospital Universitario Son Espases Palma de Mallorca SPAIN	Antonio Oliver Palomo	<a href="mailto:antonio.oliver@ssib.es">antonio.oliver@ssib.es</a>	PI
	Enrique Ruiz de Gopegui	<a href="mailto:enrique.ruiz@ssib.es">enrique.ruiz@ssib.es</a>	I1
	Carme I. Marinescu	-	I2
Hospital Marqués de Valdecilla Santander SPAIN	Luis Martínez Martínez	<a href="mailto:lmartinez@humv.es">lmartinez@humv.es</a>	PI
	Mª del Carmen Fariñas	<a href="mailto:mirfac@humv.es">mirfac@humv.es</a>	I1

	María Eliecer Cano	-	I2
Hospital Clinic Barcelona SPAIN	Manel Almela	<a href="mailto:malmela@clinic.ub.es">malmela@clinic.ub.es</a>	PI
		-	
		-	
Hospital La Paz Madrid SPAIN	José Ramón Paño Pardo	<a href="mailto:joserapa@gmail.com">joserapa@gmail.com</a>	PI
		-	I1
		-	I2
Hospital Bellvitge, Barcelona, SPAIN	Carmen Peña Miralles	<a href="mailto:cpena@bellvitgehospital.cat">cpena@bellvitgehospital.cat</a>	PI
	Silvia Gómez-Zorrilla	-	I1
	Fe Tubau Quintano	-	I2
Medical School, University of Thessaly Larissa, GREECE	Spyros Pournaras	<a href="mailto:pournaras@med.uth.gr">pournaras@med.uth.gr</a>	PI
	Athanassios Tsakris	-	I1
	Olympia Zarkotou	-	I2
Baskent University Faculty of Medicine, Ankara, TURKEY	Özlem Kurt Azap	<a href="mailto:ozlem.azap@gmail.com">ozlem.azap@gmail.com</a>	PI
		-	
		-	
University General Hospital Attikon, Chaidari, GREECE	Maria Souli	<a href="mailto:msouli@med.uoa.gr">msouli@med.uoa.gr</a>	PI
	Anastasia Antoniadou	<a href="mailto:ananto@med.uoa.gr">ananto@med.uoa.gr</a>	I1
	Garyphalia Poulakou	<a href="mailto:gpoulakou@gmail.com">gpoulakou@gmail.com</a>	I2
C.H. Universitario A Coruña, SPAIN	German Bou	<a href="mailto:German.Bou.Arevalo@sergas.es">German.Bou.Arevalo@sergas.es</a>	PI
		-	
		-	
Department of Medicine, University of Calgary, Calgary, CANADA	Johan Pitout	<a href="mailto:johann.pitout@cls.ab.ca">johann.pitout@cls.ab.ca</a>	PI
		-	I1
		-	
Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, 980-8574, JAPAN	Hisakazu Yano	<a href="mailto:yanohisa@med.tohoku.ac.jp">yanohisa@med.tohoku.ac.jp</a>	PI
	Shiro Endo	<a href="mailto:ain@med.tohoku.ac.jp">ain@med.tohoku.ac.jp</a>	I1
	Hajime Kanamori	<a href="mailto:kanamori@med.tohoku.ac.jp">kanamori@med.tohoku.ac.jp</a>	I2
Hospital Universitario Reina Sofia, Córdoba, SPAIN	Fernando Rodriguez		PI
	Manuel Cause		I1
	Clara Natera	<a href="mailto:clntr@gmail.com">clntr@gmail.com</a>	I2
Charité - Universitätsmedizin Berlin, Institut für Hygiene und Umweltmedizin, Berlin, GERMANY	Rasmus Leistner	<a href="mailto:rasmus.leistner@charite.de">rasmus.leistner@charite.de</a> / <a href="mailto:rasmusleistner@gmail.com">rasmusleistner@gmail.com</a>	PI
Hospital Universitario del Mar, Barcelona, SPAIN	Juan Pablo Horcajada	<a href="mailto:jhorcaja@yahoo.es">jhorcaja@yahoo.es</a>	PI
Hacettepe University School of Medicine, Ankara, TURKEY	Murat Akova	<a href="mailto:makova@hacettepe.edu.tr">makova@hacettepe.edu.tr</a>	PI
	Özant Helvacı		I1
	Arife Ozveren Sahin		I2
Albert-Ludwigs-University. University Hospital. Freiburg, GERMANY	Winfried Kern	<a href="mailto:winfried.kern@uniklinik-freiburg.de">winfried.kern@uniklinik-freiburg.de</a>	PI
Institut für Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene Universitätsklinikum Köln, Cologne, GERMANY	Axel Hamprecht	<a href="mailto:axel.hamprecht@uk-koeln.de">axel.hamprecht@uk-koeln.de</a>	PI

## INTRODUCTION

Spread of *Enterobacteriaceae* producing betalactamases affecting cephalosporins and/or carbapenems is a worldwide concern. Treatment of invasive infections caused by these organisms is difficult because agents showing in vitro activity are limited, and there are scarce clinical studies investigating their efficacy.

As regards extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producers, carbapenems are considered the drugs of choice for invasive/severe infections. As a consequence, carbapenems are being increasingly used, which may facilitate the spread of carbapenemase-producing organisms. Thus, seeking for alternatives to carbapenems for infections caused by ESBL-producers is a priority. The results from a recent observational study and a meta-analysis suggested that  $\beta$ -lactams/ $\beta$ -lactamase inhibitors are a good alternative, mainly for susceptible *E. coli* causing urinary or biliary tract bloodstream infections (BSI). However, it would be important to confirm those results and evaluate whether such observation expand to other *Enterobacteriaceae* and sites of infection. Also, breakpoints for susceptibility to cephalosporins have been recently changed according to PK/PD data and some case series. It results that some ESBL producers are susceptible to cephalosporins, but clinical data supporting the use of these drugs for susceptible isolates according to new breakpoints would be needed. Similarly, more clinical data on the efficacy of fluoroquinolones for infections caused by ESBL-producers showing diminished susceptibility are also awaited. Finally, published experience with other drugs is also scarce.

As regards carbapenemase-producing organisms, similar questions arise. Depending on the carbapenemase, isolates may show low MIC to carbapenems (even in the range of susceptibility), and the efficacy of carbapenems for invasive infections caused by such isolates, alone or in combinations, is controversial. Other antibiotics are being used for the treatment of these infections. Recent data suggests that combination therapy including a carbapenem plus one or two active drugs might be superior to monotherapy. Whether these data would apply for different carbapenemases, MICs of carbapenems, etc, is not known. Available clinical data are

limited by sample size, lack of control group, appropriate control for confounders, or unicenter nature.

To further develop useful information and to improve the quality of the data would need the development of multinational studies. Organising an international consort may be the first step. We propose a specific project to answer to some of the question addressed above and also as a way to initiate the contacts between experts from different countries, from which further projects and ideas, including randomised control trials, may be developed.

## OBJECTIVES

Main objective: to observationally assess the efficacy of different antimicrobials in BSI due to Enterobacteriaceae producing ESBLs or carbapenemases.

Secondary objectives:

1. To provide data on specific enzymes.
2. To provide data on specific MICs for each antimicrobial evaluated.
3. To organise an international consortium that can develop high quality prospective cohort studies and randomised clinical trials in the area of MDR and XDR *Enterobacteriaceae*.

Specific hypothesis and objectives

Bacteraemic infections due to ESBL-producing *Enterobacteriaceae*:

- (A1)  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactam inhibitors are as effective as the carbapenems in the empiric and definitive therapy, irrespective of the empirical therapy, severity of infection, source and species.
  - o Objective: to demonstrate that  $\beta$ -lactam/ $\beta$ -lactam inhibitors are not associated with worse cure rate and mortality than carbapenems after controlling for confounders, both as empirical and definitive therapy.



- (A2) Definitive therapy with fluoroquinolones is as effective as definitive therapy with carbapenems if the organism is susceptible according to EUCAST criteria, irrespective of the empirical therapy, severity of infection, source and species.
  - o Objective: to demonstrate that fluoroquinolones as definitive therapy are not associated with worse cure rate and mortality than carbapenems after controlling for confounders.
- (A3) Empirical therapy with active cephalosporins in monotherapy according to present EUCAST and CLSI breakpoints are associated with worse outcomes than therapy with carbapenems except for urinary tract infections.
  - o Objective: to demonstrate that empirical cephalosporins in monotherapy are associated with worse cure rate and mortality than carbapenems after controlling for confounders in infections others than urinary tract infections.
- (A4) Empirical therapy with active aminoglycosides plus cephalosporins or fluoroquinolones is as effective as carbapenem monotherapy in urinary tract infections.
  - o Objective: to demonstrate that the association of active aminoglycosides with cephalosporins or fluoroquinolones is not associated with worse cure rate and mortality than carbapenems after controlling for confounders.
- (A5) Combination therapy is not superior to monotherapy
  - o Objective: to demonstrate that combination empirical and definitive therapy is not associated with better cure rate than monotherapy after controlling for confounders.
- (A6) For tigecycline, colistin, and fosfomycin, no hypothesis. The objective is to provide adjusted estimations of their association with outcome variables in comparison with carbapenem monotherapy according to clinical situation and infection.

Bacteraemic infections due to carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*:

- (B1) Empirical and definitive combined therapy is associated with better outcomes than monotherapy with carbapenem, colistin or tigecycline.
  - o Objective: to demonstrate that combination therapy is associated with worse cure rate and mortality than monotherapy after controlling for confounders.
- (B2) Carbapenems are more effective for infections caused by isolates with low MIC in infections other than the urinary tract in comparison to infections caused by isolates with higher MIC.
  - o Objective: to show that carbapenems are associated with worse cure rate and mortality when used in infections other than urinary tract caused by isolates showing MIC <2 µg/mL for imipenem or meropenem in comparison to those caused by isolates with higher MIC, after controlling for confounders.
- (B3) Colistin is more effective when used in optimized dose.
  - o Objective: to show that colistin used at a dose >6 million IU per day is associated with improved outcomes in comparison with lower dose, after controlling for confounders.

## METHODS

**Study design:** multicentre, international retrospective cohort study.

**Sites:** multiple expert investigators from different countries are invited. Conditions to fulfil to participate include availability of a database with the required data or ability to retrospectively collect the data in a timely manner.

**Inclusion criteria:**

- Episode of clinically-significant monomicrobial BSI due to ESBL or carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*, including community and nosocomial ones.
  - o For ESBL-producers, detection by standard phenotypic method as recommended by CLSI is enough (although PCR-based characterisation is preferred, see below).
  - o For carbapenemase-producers, characterisation by at least PCR is necessary (isolates in which carbapenemase production is suspected based on antimicrobial susceptibility profile plus phenotypic tests alone is not acceptable, see below).
- Subsequent episodes in a patient caused by the same microorganism may be included if the interval between them is >3 months.
- No age limits.

**Exclusion criteria:**

- Polymicrobial or non-clinically significant episodes. Episodes in which a potential contaminant (e.g., coagulase-negative staphylococci) is isolated only in one set of blood cultures and there is not a typical source of infection for that kind of organism (e.g. catheter-related) can be included.
- Unavailability of key data (such cases should be counted to analyse a potential selection bias)
- Episode occurring before January 2004.

**Procedure**

The participant centres are asked to include:

- Previously published cases: all these cases should be included if possible. The fact that the case had been previously published should be specified in the database.

- Additionally, participants are asked to include consecutive episodes detected by reviewing their databases (clinical, infection control or microbiological records) from January 2004 to June 2012, according to the following criteria:
  - For ESBL producers:
    - A minimum of 20 and a maximum of 50 cases should be included from each centre (the more recent ones should be selected).
      - Consecutive cases for which the enzyme is characterised at least to group level by PCR (it is, CTX-M, SHV, TEM) should be prioritised despite the date of diagnosis.
      - If not enough number of cases with PCR-characterized enzymes are available, or PCR-characterisation has not been performed, the total number of cases should be completed by including cases in which ESBL-production was identified using a standard phenotypic method.
  - For carbapenemase-producers: only cases in which the carbapenemase was characterised by PCR should be included. All episodes up to a limit of 50 cases per centre may be included.

Overall, to avoid selection biases, consecutive cases according to previous criteria should be included.

## **Variables**

A common online database has been designed. Access to database is restricted by individual user name and password.

Main outcome variable: Cure rate at day 14.

Secondary outcome variables: Mortality at 72 hours, 7, 14 and 30 days, clinical improvement at 72 hours, clinical cure at day 28.

#### Explanatory variables:

- Demographics
- Severity of chronic underlying conditions: McCabe and Charlson index
- Acute severity of underlying disease: Pitt score during the the day before BSI.
- Type of acquisition
- Source of BSI
- Severity of SIRS at presentation
- Microorganism, betalactamase, MICs
- Empirical therapy
- Definitive therapy

#### Definitions

- Clinically significant bacteremia: bacteremia that occurs in a patient with criteria for systemic inflammatory response (see below, sepsis criteria).
- Charlson index: punctuation is automatically calculated by filling the data in the database. Alternatively, if Pitt score had been calculated previously, it can be directly added. For all diseases, a medical diagnosis in chart is enough. Additionally, these criteria should be used. Diabetes mellitus: antidiabetic therapy (oral or insulin). Chronic pulmonary disease: any disease conducting to chronic respiratory insufficiency. Miocardial infarction: EKG evidence. Congestive heart failure: NYHA grades II or higher. Peripheral arterial disease: if causing skin ulcer or needed revascularization or amputation. Dementia: if significantly limiting independence for basic activities. Connective tissue disease: requiring immunosuppressive therapy. Liver disease: chronic hepatitis, significant liver fibrosis, or cirrhosis. Kidney disease: creatinin clearance <30 ml/min or any need for chromic dialysis. Any tumor: any malignancy requiring chemotherapy and/or radiotherapy, or palliative care.
- McCabe classification (modified). This is a classification of chronic underlying condition (not the acute condition) as follows: non-fatal underlying disease (no underlying disease or related death is not expected in next 5 years), ultimately fatal underlying disease (related death is expected to occur in the next 5 years), or rapidly fatal disease (related death is expected to occur in the next year)

- Pitt score: punctuation is automatically calculated by filling the data in the database, which should be retrospectively be collected in the 24 hours prior to diagnosis of bacteremia. Alternatively, if Pitt score had been calculated previously, it can be directly added.
- SIRS severity
  - o Sepsis: at least 2 of the following: temperature  $>38^{\circ}\text{C}$  or  $<36^{\circ}\text{C}$ , respiratory rate  $>20$  or  $\text{PaCO}_2 <32$  mmHg, heart rate  $>90$ , altered mental status, systolic blood pressure  $<90$  mmHg, leukocyte count  $>12.000/\text{mm}^3$  or  $<4.000/\text{mm}^3$  or immature forms  $>10\%$ .
  - o Severe sepsis: sepsis plus one of the following: hypotension (systolic BP  $<90$  mmHg, median BP  $<70$  mmHg, decrease in median BP  $>40$  mmHg), organ dysfunction (respiratory, renal, liver, neurologic, hematologic), or hyperlactatemia ( $> 3$  mmol/L)
  - o Septic shock: sustained hypotension not responding to fluid support therapy and requiring inotropic support.
- Acquisition. Nosocomial if infection signs/symptoms started  $>48$  hours after hospital admission, or in less than 48 hours after hospital discharge. Otherwise, the case should be considered community-onset.
  - o If community-onset, the episode is considered healthcare-associated if fulfilling any of the following criteria in the previous 3 months: hospitalization in acute care center, any kind of dialysis, surgery, specialized home care, attention at day-hospital, any kind of invasive procedure (endoscopy, urinary or vascular catheterization, etc.), or long-term care facility resident.
- Source: CDC definitions for nosocomial infections will be used as a reference; however, clinical and microbiological criteria as evaluated by the investigators may be used for interpretation. A source does not need to be microbiologically confirmed if enough clinical criteria are present.
- Empirical therapy: administered before susceptibility report is available.
- Definitive therapy: administered once the susceptibility report is available. If empirical therapy was continued, it is not necessary to fill the definitive therapy data.

- Outcome definitions:
  - o Improvement: partial control or resolution of signs and symptoms related to the infection, or resolution but antibiotic therapy is still necessary.
  - o Non-improvement or deterioration: clinical situation qualified as similar or worse in comparison to that at the diagnosis of bacteremia.
  - o Cure: resolution of all signs and symptoms related to the infection, and antibiotic therapy is no longer necessary.
  - o Dead: death of the patient for whatever the reason.

### **Quality of data**

Data will be approved and signed by the responsible investigator in each center. All data will be centrally reviewed; queries will be sent for lacking data and those showing inconsistencies or discrepancies. Data will be analysed per center; those with data showing significant differences with the average will be requested for review.

### **Statistical Analysis Plan**

- Subcohorts with patients treated with the treatment to be compared will be selected.
- A propensity score to receive the 2 treatment types to compare will be calculated by obtaining a non-parsimonious multivariate model by logistic regression in which the outcome variable will be the treatment type. The explanatory variables will include age, gender, center, type of ward, acquisition, Charlson index, Pitt score, severity of SIRS and source.
- After univariate analysis, multivariate analysis to investigate the adjusted association of treatment type with the main and secondary outcome variables will be performed by using logistic regression (for clinical response at day 14) and by Cox regression for mortality. If time until death is unavailable, logistic

regression will be used for 30-day mortality. Logistic regression will also be used for 72-hour and 30-day clinical response. The propensity score will be added in all cases; also, Charlson score, Pitt score, severity of SIRS and source will be added. Finally, interaction between treatment type and source classified as urinary tract and others will be included.

## **ETHICAL ISSUES**

This is a retrospective, non-intervention study. The main ethical issue to consider regards the protection of patients' data. In the database, patients' data will be disaggregated from any personal data that might identify them. The online database will not include any data that allows the identification of the patients. Access to database will only be allowed by use of an individual access password.

The project was qualified by the Spanish Medicines Agency (AEMPS; code JRB-ANT-2012-01; classified as post-authorization study, EPA-OD) and was approved by the Hospital Universitario Virgen Macarena Institutional Review Board (code 1921), which waived the need to obtain written informed consent due to the retrospective and observational nature of the study. Local policies should be followed at each centre.

The study has been registered in ClinicalTrials.gov.

## **FUNDING**

The study is supported by Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI), Ministerio de Ciencia e Innovación, Instituto de Salud Carlos III co-financed by European Development Regional Fund "A way to achieve Europe" ERDF, Spanish Network for the Research in Infectious Diseases (REIPI RD06/0008). REIPI provides funding for the online database development and server. Staff hired with REIPI funding dedicated to different research projects included in the REIPI Research Program will be dedicated part time to the project. There is no other funding.



## **PUBLICATION, AUTHORSHIP, AND DATABASE RIGHTS/SECURITY POLICY**

- Consortium. Each centre or research group may include up to 3 investigators in the consortium. One of them will be designated as principal investigator from their centre.
- The Editorial Committee is formed by coordinators and the principal investigator of each participating centre.
- The Steering Committee is composed by the Jesús Rodríguez-Baño, Alvaro Pascual (study coordinators), Yehuda Carmeli, David L. Paterson, and Robert Bonomo.
- Publication policy. The Editorial Committee will decide the publication and authorship policy, after Steering Committee proposals. Any member of the Editorial Committee may propose additional analysis and publications beyond those included in this document.
- Authorship. To be author, criteria for authorship as established by medical journals must be fulfilled. In general terms, manuscripts would be authored by writer, coordinators, and one author per centre according to the number of cases included in the article whenever fulfilling the authorship criteria; if a limited number of authors is allowed, all other authors would be included in a list in the Acknowledgement section as “Other authors”. All other participants in the study would be listed in the Acknowledgement section as “Other participants”. Alternatively, group authorship may be considered.
- The database is propriety of REIPI and will be hosted by REIPI in a server accomplishing the guarantee for data protection according to Spanish legislation. Investigators from the consortium will have access through individual password to all data from their institution. The Steering Committee must approve any initiative to report partial results from specific institutions, to avoid duplicity in publications. Access to the whole database will be provided after specific requests for defined analysis and publications if approved by the Steering Committee.
- The project will serve for the PhD program of Belén Gutiérrez.

## TIMELINE

- Deadline for patients inclusion in common database by each participant centre is August 31st, 2013.
- The database will be closed after review and modifications needed on September 30th, 2013.
- Preliminary analysis will be performed so that abstracts can be submitted for ECCMID 2014 and ICAAC 2014.
- During 2014, at least 2 publications must be submitted to international journals.

End of document.



# **An International Consortium for the clinical study of bloodstream infections caused by multidrug-resistant Enterobacteriaceae (INCREMENT)**

## **Memorandum of understanding**

**December 2012**

The INCREMENT Project has as objectives:

Main objective: to observationally assess the efficacy of different antimicrobials in BSI due to Enterobacteriaceae producing ESBLs or carbapenemases.

### Secondary objectives:

1. To provide data on specific enzymes.
2. To provide data on specific MICs for each antimicrobial evaluated.
3. To organise an international consortium that can develop high quality prospective cohort studies and randomised clinical trials in the area of MDR and XDR Enterobacteriaceae.

The guiding principles behind the INCREMENT should be as follows:

1. The privacy, anonymity and confidentiality of research participants are protected. The main ethical issue to consider regards the protection of patients' data. In the online database that has been designed to include all episodes that satisfy inclusion criteria, patients' data will be disaggregated from any personal data that might identify them. Access to database will only be allowed by use of an individual access password.
2. INCREMENT Project will have the following organization: A Steering Committee, Study Coordinators (they will be part of the Steering Committee), a Data manager and the Participating centres.

3. The Steering Committee will address the main issues about the Study, such as objectives, procedures, and the statistical analysis plan.
4. The Study Coordinators of the Steering Committee will coordinate all participating centres. All relevant information relative to INCREMENT Project will be communicated to the investigators through the Study Coordinators. In the same way, the Study Coordinators will deal with the proposals, observations, clarifications or problematic about the Study that each participating centre could formulate, or will raise to Steering Committee decision if necessary.
5. The Data Manager will coordinate with the participating centres the inclusion of the cases in the online database, as well of solving any question that may arise.
6. Each centre or research group may include up to 3 investigators in the consortium. One of them will be designated as principal investigator from their centre. The PI can change over time, as required by the centre. The PI for each participating centre will ensure that the study is conducted there in accordance with the protocols agreed by INCREMENT. They will also ensure the collection and inclusion of the data in the database within the deadlines set by the INCREMENT Project.
7. Contributing PIs will have access to all clinical or biological data collected from their centre.
8. The database is property of Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI), funded by the Spanish Government, and will be hosted by REIPI in a server accomplishing the guarantee for data protection according to Spanish legislation. Investigators from the consortium will have access through individual password to all data from their institution.

9. Although the sovereignty of all clinical data contributed to the INCREMENT Project will remain with the contributing centre, the Steering Committee must approve any initiative to report partial results from specific institutions, to avoid duplicity in publications. Access to the whole database will be provided after specific requests for defined analysis and publications if approved by the Steering Committee.
10. An Editorial Committee will be formed by coordinators and the principal investigator of each participating centre. The Editorial Committee will decide the publication and authorship policy, after coordinators proposals. Any member of the Editorial Committee may propose additional analysis and publications beyond those included in this document.
11. Authorship. To be author, criteria for authorship as established by medical journals must be fulfilled. In general terms, manuscripts would be authored by writer, coordinators, and one author per centre according to the number of cases included in the article whenever fulfilling the authorship criteria; if a limited number of authors is allowed, all other authors would be included in a list in the Acknowledgement section as "Other authors". All other participants in the study would be listed in the Acknowledgement section as "Other participants". Alternatively, group authorship may be considered.
12. Acquisition of funding: The study is supported by Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI), Ministerio de Ciencia e Innovación, Instituto de Salud Carlos III co-financed by European Development Regional Fund "A way to achieve Europe" ERDF, Spanish Network for the Research in Infectious Diseases (REIPI RD06/0008). REIPI provides funding for the online database development and server. Staff hired with REIPI funding dedicated to different research projects included in the REIPI Research Program will be dedicated part time to the project. There is no other funding.

INCREMENT, Memorandum of understanding, Dec, 2012

CENTRE: \_\_\_\_\_

PRINCIPAL INVESTIGATOR: \_\_\_\_\_

SIGNATURE: \_\_\_\_\_

DATE: \_\_\_\_\_

*LETTER OF INTENT*

NAME OF INVESTIGATOR.....

INSTITUTION:.....

is willing to participate as a partner under the leadership of the Hospital Universitario Virgen Macarena, being Jesús Rodríguez Baño the Coordinator of the project proposal entitled “Retrospective cohort of bloodstream infections caused by multi-drug resistant Enterobacteria: impact of antimicrobial therapy on outcome”.

In order to define the content of the proposal, the parties may have to exchange information of a confidential or proprietary nature presently in their possession and wish to ensure that the same remains confidential.

Each party undertake to treat any and all confidential information as confidential, to use it solely for the purpose of the preparation of the project proposal as stated in this letter, not to disclose it to any third party, and not to make it publicly available or accessible in any way, except with the prior written consent of the disclosing party.

Signed:

NAME OF INVESTIGATOR

Date:

## **ANEXO III**

- **Centros participantes proyecto INCREMENT**
- **Listado de Investigadores participantes proyecto INCREMENT**



## Centros participantes en el proyecto INCREMENT

Núm.	CENTROS PARTICIPANTES	PAÍS
1	Hospital Univ. V. Macarena, Seville	ESPAÑA
2	Hospital Universitario Virgen Arrixaca de Murcia	ESPAÑA
3	Hippokration Hospital Thessaloniki	GRECIA
4	University of Pittsburgh	EE.UU.
5	Hospital de Clinicas da Universidade Federal do Parana Curitiba, PR	BRASIL
6	Wits Donald Gordon Medical Centre, Johannesburg	SUDÁFRICA
7	National Taiwan University Hospital	TAIWAN
8	Hospital de la Santa Creu i Sant Pau Barcelona	ESPAÑA
9	Hospital 12 de Octubre, Madrid	ESPAÑA
10	Hospital Vall d'Hebrón de Barcelona	ESPAÑA
11	Hospital Virgen del Rocío Sevilla	ESPAÑA
12	Hospital Español, Rosario	ARGENTINA
13	Hospital Universitario Son Espases Palma de Mallorca	ESPAÑA
14	Hospital Marqués de Valdecilla Santander	ESPAÑA
15	Hospital Clinic Barcelona	ESPAÑA
16	Hospital Bellvitge, Barcelona,	ESPAÑA
17	Medical School, University of Thessaly Larissa,	GRECIA
18	Tel Aviv Sourasky medical center, Tel Aviv,	ISRAEL
19	Baskent University Faculty of Medicine, Ankara,	TURQUÍA
20	University General Hospital Attikon, Chaidari,	GRECIA
21	Department of Medicine, University of Calgary, Calgary,	CANADA
22	Hospital Universitario Reina Sofia,Córdoba,	ESPAÑA
23	Hacettepe University School of Medicine, Ankara,	TURQUÍA
24	Hospital La Paz, Madrid	ESPAÑA
25	Louis Stokes Cleveland VA Medical Center, Cleveland, OH,	EE.UU.
26	Institut für Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene. Universitätsklinikum Köln, Cologne,	ALEMANIA
27	C.H. Universitario A Coruña,	ESPAÑA
28	Hospital Ramón y Cajal, Madrid,	ESPAÑA
29	Teaching Hospital Policlinico S. Orsola Malpighi. Bologna,	ITALIA
30	Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen,	ALEMANIA
31	Hospital Universitari Mútua de Terrassa, Barcelona,	ESPAÑA
32	Policlinico Umberto I, University of Rome La Sapienza,	ITALIA
33	Hospital Parc Taulí ,Sabadell,	ESPAÑA
34	National and Kapodistrian University of Athens, Laikon General Hospital, Athens,	GRECIA
35	Hygeia General Hospital, Athens,	GRECIA
36	Catholic University of the Sacred Heart, Rome,	ITALIA
37	Royal Brisbane and Women's Hospital, Herston	AUSTRALIA

## **Investigadores participantes en el proyecto INCREMENT**

M. de Cueto, E. Salamanca, J. Gálvez, M.D. del Toro, P. Retamar, B. Gutiérrez (Hosp. Univ. V. Macarena, Seville, Spain); M. J. Schwaber (Tel Aviv Sourasky medical center, Tel Aviv, Israel); F. Pérez (Louis Stokes Cleveland VA Medical Center, Cleveland, OH, USA); M. Venditti, M. Falcone, A. Russo (Policlinico Umberto I, University of Rome La Sapienza, Italy); L. Daikos (National and Kapodistrian University of Athens, Laikon General Hospital, Athens, Greece); H. Giamarellou, Ilias Karaikos (Hygeia General Hospital, Athens, Greece); M. Tumbarello, E. M. Trecarichi, A. R. Losito (Catholic University of the Sacred Heart, Rome, Italy); D. L. Paterson (Royal Brisbane and Women's Hospital, Herston, Australia); E. García, A. Hernández, J. Gómez (Hospital Universitario Virgen Arrixaca de Murcia, Spain); E. Roilides (Hippokration Hospital, Thessaloniki, Greece); Y. Doi (University of Pittsburgh, USA); F. F. Tuon (Hospital de Clinicas da Universidade Federal do Paraná Curitiba, PR, Brazil); W. Lowman (NHLS/ Wits School of Pathology, South Africa); Po-Ren Hsueh (National Taiwan University Hospital, Taiwan); F. Navarro, B. Mirelis, N. Prim (Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain); R. San Juan, M. Fernández, J. Origüen (Hospital 12 de Octubre, Madrid, Spain); B. Almirante, N. Larrosa, M. Puig (Hospital Vall d'Hebrón de Barcelona, Spain); J. M. Cisneros, J. Molina, V. González (Hospital Virgen del Rocío Sevilla, Spain); J. Bermejo (Hospital Español, Rosario, Argentina); A. Oliver, E. Ruiz de Gopegui, C. I. Marinescu (Hospital Universitario Son Espases, Palma de Mallorca, Spain); L. Martínez, M. C. Fariñas, M. Eliecer, M. Gozalo (Hospital Marqués de Valdecilla, Santander, Spain); M. Almela (Hospital Clinic Barcelona, Spain); J. R. Paño (Hospital La Paz, Madrid, Spain); C. Peña, S. Gómez-Zorrilla, F. Tubau (Hospital Bellvitge, Barcelona, Spain); S. Pournaras, A. Tsakris, O. Zarkotou (Medical School, University of Thessaly Larissa, Greece); Ö. K. Azap (Baskent University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey); M. Souli, A. Antoniadou, G. Poulakou (University General Hospital Attikon, Chaidari, Greece); J. Pitout (Department of Medicine, University of Calgary, Calgary, Canada); J. Torre-Cisneros, I. Gracia-Ahulfinger, E. Pérez-Nadales, C. Natera (Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, Spain); M. Akova, Ö. Helvacı, A. O. Sahin (Hacettepe University School of Medicine, Ankara, Turkey); A. Hamprecht (Institut für Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene Universitätsklinikum Köln, Cologne, Germany); G. Bou (C.H. Universitario A Coruña, Spain); R. Cantón, P. Ruiz, V. Pintado (Hospital Ramón y Cajal, Madrid, Spain); P. Viale, M. Bartoletti, M. Giannella (Teaching Hospital Policlinico S. Orsola Malpighi, Bologna, Italy); E. Tacconelli (Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Germany); E. Calbo, C. Badia (Hospital Universitari Mútua de Terrassa, Barcelona, Spain); O. Gasch, D. Fontanals, E. Jové (Hospital Parc Taulí, Sabadell, Spain)

## **ANEXO IV**

- **Ejemplo de Newsletter remitida mensualmente centros participantes**



## NEWSLETTER. Nº 8

October 2013

Dear investigator,

This is the 8th newsletter for the INCREMENT project in which you are participating.

- Please find below the updated number of cases included so far in the database. As you can see, we have exceeded the number of 1000 cases in our study! As for October 22th, there are 792 and 340 patients with ESBL-and carbapenemase-producing isolates, respectively.
- As you know, the database will be closed on the 31<sup>st</sup> December 2013. So we encourage you to continue including patients until this deadline. For the centers that have finished the inclusion, please close the “active cases” so we can begin reviewing them.
- We are starting to send queries for key missing data. Please understand that completion of data is absolutely important for the success of the project.
- Do not hesitate to contact us for any question, suggestion or comment at [belengutiguti@hotmail.com](mailto:belengutiguti@hotmail.com) or visit [www.incrementproject.org](http://www.incrementproject.org)

Thank you for your effort and implication.

The Increment Project Coordination Team.

HOSPITAL	ESBL	CARBAPENEMASES	TOTAL
Hospital Univ. Virgen de Macarena	50	0	50
Policlinico Umberto I	52	35	87
Laikon General Hospital	0	30	30
Catholic Univ. of the Sacred Heart	25	22	47
Hospital Universitario Virgen Arrixaca	18	0	18
HCUF Parana Curitiba	0	23	23
National Taiwan University Hospital	15	60	75
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau	24	1	25
Hospital Vall d'Hebrón de Barcelona	23	2	25
Hospital Virgen del Rocío	40	0	40
Hospital Español de Rosario	22	6	28
Hospital Universitario Son Espases	50	4	54
Hospital Marqués de Valdecilla	50	0	50
Hospital Clinic Barcelona	20	0	20
Hospital Bellvitge, Barcelona	45	1	46
Medical School, University of Thessaly	0	1	1
Baskent University Faculty of Medicine	0	17	17
University General Hospital Attikon	5	10	15
Hospital Universitario Reina Sofía	7	16	23
Hacettepe University School of Medicine	26	10	36
C.H. Universitario A Coruña	25	0	25
Hygeia General Hospital	24	14	38
Hospital 12 de Octubre	30	0	30
NHLS/Wits School of Pathology	9	3	12
THP Orsola Malpighi. Bologna	19	30	49
Universitätsklinikum Tübingen	33	0	33
Hospital Universitari Mútua de Terrassa	47	0	47
Hospital Parc Taulí ,Sabadell	49	1	50
University of Pittsburgh	0	27	27
Telaviv Sourasky Medical Center	2	0	2
Ramón y Cajal, Madrid	50	27	77
Department of Medicine, University of Calgary	32	0	32
<b>TOTAL</b>	<b>792</b>	<b>340</b>	<b>1132</b>

## **ANEXO V**

- **Documento de recogida de datos basado en la base de datos online:**

**[www.incrementproject.org](http://www.incrementproject.org)**

# Enrollment & Demographic Data

Local Identification Code\*

The patient was previously published ☐ Yes ☐ No

First Author

Journal

Year

Gender\* ☐ Male ☐ Female

Age\*

Admission Date\*

Format (dd/mm/yyyy)

Blood Culture\*

Blood culture (first positive) date. Format (dd/mm/yyyy)

Death Date\*

Format (dd/mm/yyyy)

Discharge Date\*

Date of last Assessment

Hospital Stay\*

## Microbiological characterizations

Betalactamase type\*

Enterobacteriaceae\*

Species\*

ESBL characterised by PCR ☐ Yes ☐ No

Type of ESBL enzyme

(enter group of ESBL)

Specific ESBLs

(type the specific ESBL produced by the isolate if characterised (e.g. CTX-M-15, type 15)

Other types of ESBL enzymes (SHV, CTM-X)

If there are two or more, enter them with a coma separation (e.g. SHV-12, TEM-10)

Type of Carbapenemase

Specific Carbapenemase

Antimicrobial Susceptibility Testing Guideline



Charlson Index

Diabetes Mellitus  

Chronic Pulmonary Disease ☐ Yes ☐ No

Myocardial Infarct ☐ Yes ☐ No

Congestive Heart Failure ☐ Yes ☐ No

Peripheral artery disease ☐ Yes ☐ No

Dementia ☐ Yes ☐ No

Connective tissue disease ☐ Yes ☐ No

Ulcerative disease ☐ Yes ☐ No

Liver disease  

Kidney disease ☐ Yes ☐ No

Any Tumor  

Hemiplegia ☐ Yes ☐ No

AIDS ☐ Yes ☐ No

Charlson Score (autocalculated)

**Clinical Features**

Hospital/Community acquisition

To be filled only if community onset

Source of Infection

Hospital Service of admission

(Where blood cultures were taken)

**SIRS Severity**

SIRS Severity

**Empirical Therapy 1**

Complete requested data for the antimicrobial finally adopted during the first 24 hours after the blood culture

Antimicrobial\*

Dose (mg/interval in hours)\*

MIC (µg/ml)

S-I-R

Start Date

End Date

Duration

First Reason for stopping  
antibiotic

Second Reason for stopping  
antibiotic

**Empirical Therapy 2**

Complete in the same way than Empirical Therapy 1 when another antimicrobial, different to numer 1, is provided before Microbiological Report

Antimicrobial\*

Dose (mg/interval in hours)\*

MIC (µg/ml)

S-I-R

Start Date

End Date

Duration

First Reason for stopping  
antibiotic

Second Reason for stopping  
antibiotic

**Empirical Therapy 3**

Complete in the same way than Empirical Therapy 1 when another antimicrobial, different to numer 1 and 2, is provided before Microbiological Report

Antimicrobial\*

Dose (mg/interval in hours)\*

MIC (µg/ml)

S-I-R

Start Date

End Date

Duration

First Reason for stopping  
antibiotic

Second Reason for stopping  
antibiotic

**Definitive Therapy 1**

Complete requested data for the antimicrobial finally adopted after Microbiological report

Antimicrobial\*

Dose (mg/interval in hours)\*

MIC (µg/ml)

S-I-R

Start Date

End Date

Duration

**Definitive Therapy 2**

Fill only if two different antimicrobial are suminstered in definitive therapy

Antimicrobial\*

Dose (mg/interval in hours)\*

MIC (µg/ml)

S-I-R

Start Date

End Date

Duration

**Definitive Therapy 3**

Antimicrobial\*

Dose (mg/interval in hours)\*

MIC (µg/ml)

S-I-R

Start Date

End Date

Duration



## Outcome

Complete patient post therapy situation in 72 hours, 7, 14 and 30 days after the treatment started choosing from the drop-down list

72 Hours

7 Days

14 Days

**Cure:** complete resolution of signs and symptoms of infection, and antibiotic therapy.

**Improvement:** partial resolution of signs and symptoms of infection or therapy is still needed

**No improvement or deterioration:** no changes in signs or symptoms of infection, or worsening

**Dead:** death from any cause

30 Days

**Cure:** complete resolution of signs and symptoms of infection, and antibiotic therapy.

**Improvement:** partial resolution of signs and symptoms of infection or therapy is still needed

**No improvement or deterioration:** no changes in signs or symptoms of infection, or worsening

**Dead:** death from any cause

**Free-format comments**

Free-format comments

**Closing Entry**

Closing Entry ☐ Yes Please, note that changes are not allowed after closing an entry

Name of Investigator

## **ANEXO VI**

### **- STROBE checklist**

**Checklist of items according to STROBE document.**

	<b>Recommendation</b>	<b>Assesment</b>
Title and abstract	(a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract	Study desing specified in title and abstract
	(b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found	Balanced summary included in the abstract
Background/ rationale	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported	The scientific background and rationale is included in the Introduction
Objectives	State specific objectives, including any prespecified hypotheses	Pre-specified hypothesis and objectives are stated in the Introduction
Study design	Present key elements of study design early in the paper	Study design described in the first part of Methods
Setting	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection	Described in Methods
Participants	(a) Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants. Describe methods of follow-up	Described in Methods
	(b) For matched studies, give matching criteria and number of exposed and unexposed	This is not a matched study
Variables	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable	Defined in Methods
Data sources/ measurement	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group	Specified in Methods. The same methods for collection of data were used in the groups.
Bias	Describe any efforts to address potential sources of bias	Selection bias: inclusion of consecutive cases. Information bias: use of

		well-defined, standard, easy to collect variables (piloted). Use of soft and hard outcome variables.
Study size	Explain how the study size was arrived at	The attempted sample size was specified in Methods
Quantitative variables	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why	Quantitative variables were handled as such. No groupings were done
Statistical methods	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding	Included in Methods
	(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions	Included in Methods
	(c) Explain how missing data were addressed	Patients with missing data were excluded
	(d) If applicable, explain how loss to follow-up was addressed	No patient was lost to follow-up
	(e) Describe any sensitivity analyses	Included in Methods
Participants	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed	Included in Results (Figure 1)
	(b) Give reasons for non-participation at each stage	Specified in Figure 1
	(c) Consider use of a flow diagram	Figure 1
Descriptive data	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders	Table 6
	(b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest	Figure 1
	(c) Summarise follow-up time (eg, average and total amount)	Information for 30 days was available from all patients

Outcome data	Report numbers of outcome events or summary measures over time	Table 6
Main results	(a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included	Specified in Results
	(b) Report category boundaries when continuous variables were categorized	Continuous variables were not categorized
	(c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period	Not applicable
Other analyses	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses	Specified in Results
Key results	Summarise key results with reference to study objectives	Specified in Conclusions and Discussion
Limitations	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias	Included in Discussion
Interpretation	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence	Included in Discussion
Generalisability	Discuss the generalisability (external validity) of the study results	Included in Discussion
Funding	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based	Included

